تطبيقــات تربـية النبات فى

مكافحــة الأمـراض و الآفـــات

سلسلة تربية النبات

تطبيقات تربية النبات فى مكافحة الأمراض والآفات

تألـيف

أ. د. أحمد عبدالمنعم حســــن

الأســتاذ بكلية الـزراعة – جامعـة القاهـرة

دكتوراة الفلسفة (تربية النبات)

جامعة كورنلّ – الولايات المتحدة الأمريكية

الطبعة الأولى

2008

حقوق النشر

تطبيقات تربية النبات فى

مكافحة الأمراض والآفـــات

رقم الإيداع : 2007/22606

I. S. B. N. : 977-258-296-1

32 شارع عبـاس العقاد - مدينة نصر

مقدمة الناشر

يتزايد الاهتمام باللغة العربية فى بلادنا يومًا بعد يوم. ولاشك أنه فى الغد القريب ستستعيد اللغة العربية هيبتها التى طالما امتهنت وأذلت من أبنائها وغير أبنائها. ولا ريب فى أن امتهان لغة أية أمة من الأمم هو إذلال ثقافى فكرى للأمة نفسها؛ الأمر الذى يتطلب تضافر جهود أبناء الأمة رجالاً ونساءً، طلابًا وطالبات، علماء ومثقفين، مفكرين وسياسيين فى سبيل جعل لغة العروبة تحتل مكانتها اللائقة التى اعترف المجتمع الدولى بها لغة عمل فى منظمة الأمم المتحدة ومؤسساتها فى أنحاء العالم، لأنها لغة أمة ذات حضارة عريقة استوعبت - فيما مضى - علوم الأمم الأخرى، وصهرتها فى بوتقتها اللغوية والفكرية، فكانت لغة العلوم والأدب، ولغة الفكر والكتابة والمخاطبة.

إن الفضل فى التقدم العلمى الذى تنعم به أوروبا اليوم يرجع فى واقعه إلى الصحوة العلمية فى الترجمة التى عاشتها فى القرون الوسطى. فقد كان المرجع الوحيد للعلوم الطبية والعلمية والاجتماعية هو الكتب المترجمة عن اللغة العربية لابن سينا وابن الهيثم والفارابى وابن خلدون وغيرهم من عمالقة العرب، ولم ينكر الأوروبيون ذلك، بل يسجل تاريخهم ما ترجموه عن حضارة الفراعنة والعرب والإغريق، وهذا يشهد بأن اللغة العربية كانت مطواعة للعلم والتدريس والتأليف، وأنها قادرة على التعبير عن متطلبات الحياة وما يستجد من علوم، وأن غيرها ليس بأدق منها، ولا أقدر على التعبير.

ولكن ما أصاب الأمة من مصائب وجمود بدأ مع عصر الاستعمار التركى، ثم البريطانى والفرنسى، عاق اللغة عن النمو والتطور، وأبعدها عن العلم والحضارة، ولكن عندما أحس العرب بأن حياتهم لابد من أن تتغير، وأن جمودهم لابد أن تدب فيه الحياة، اندفع الرواد من اللغويين والأدباء، والعلماء فى إنماء اللغة وتطويرها، حتى أن مدرسة قصر العينى فى القاهرة، والجامعة الأمريكية فى بيروت درستا الطب بالعربية أول إنشائها. ولو تصفحنا الكتب التى ألفت أو تُرجمت يوم كان الطب يدرس فيهما باللغة العربية لوجدناها كتبًا ممتازة لا تقل جودة عن أمثلتها من كتب الغرب فى ذلك الحين، سواء فى الطبع، أو حسن التعبير، أو براعة الإيضاح، ولكن هذين المعهدين تنكرا للغة العربية فيما بعد، وسادت لغة المستعمر. وفُرضت على أبناء الأمة فرضًا، إذ رأى المستعمر فى خنق اللغة العربية مجالاً لعرقلة الأمة العربية.

وبالرغم من المقاومة العنيفة التى قابلها، إلا أنه كان بين المواطنين صنائع سبقوا الأجنبى فيما يتطلع إليه، فتفننوا فى أساليب التملق له اكتسابًا لمرضاته، ورجال تأثروا بحملات المستعمر الظالمة، يشككون فى قدرة اللغة على استيعاب الحضارة الجديدة، وغاب عنهم ما قاله الحاكم الفرنسى لجيشه الزاحف إلى الجزائر: "علموا لغتنا وانشروها حتى نحكم الجزائر، فإذا حكمت لغتنا الجزائر، فقد حكمناها حقيقة".

فهل لى أن أوجه نداءً إلى جميع حكومات الدول العربية بأن تبادر - فى أسرع وقت ممكن - إلى اتخاذ التدابير، والوسائل الكفيلة باستعمال اللغة العربية لغة تدريس فى جميع مراحل التعليم العام، والمهنى، والجامعى، مع العناية الكافية باللغات الأجنبية فى مختلف مراحل التعليم لتكون وسيلة الإطلاع على تطور العلم والثقافة والانفتاح على العالم. وكلنا ثقة من إيمان العلماء والأساتذة بالتعريب، نظرًا لأن استعمال اللغة القومية فى التدريس ييسر على الطالب سرعة الفهم دون عائق لغوى، وبذلك تزداد حصيلته الدراسية، ويرتفع بمستواه العلمى، وذلك يعتبر تأصيلاً للفكر العلمى فى البلاد، وتمكينًا للغة القومية من الازدهار والقيام بدورها فى التعبير عن حاجات المجتمع، وألفاظ ومصطلحات الحضارة والعلوم.

ولا يغيب عن حكومتنا العربية أن حركة التعريب تسير متابطئة، أو تكاد تتوقف، بل تحارب أحيانًا ممن يشغلون بعض الوظائف القيادية فى سلك التعليم والجامعات، ممن ترك الإستعمار فى نفوسهم عقُدًا وأمراضًا، رغم أنهم يعلمون أن جامعات إسرائيل قد ترجمت العلوم إلى اللغة العبرية، وعدد من يتخاطب بها فى العالم لا يزيد عن خمسة عشر مليون يهوديًّا، كما أنه من خلال زياراتى لبعض الدول واطلاعى وجدت كل أمة من الأمم تدرس بلغتها القومية مختلف فروع العلوم والآدب والتقنية، كاليابان، وإسبانيا، وألمانيا، ودول أمريكا اللاتينية، ولم تشك أمة من هذه الأمم فى قدرة لغتها على تغطية العلوم الحديثة، فهل أمة العرب أقل شأنًا من غيرها ؟!.

وأخيرًا .. وتمشيًّا مع أهداف الدار العربية للنشر والتوزيع، وتحقيقًا لأغراضها فى تدعيم الإنتاج العلمى، وتشجيع العلماء والباحثين فى إعادة مناهج التفكير العلمى وطرائقه إلى رحاب لغتنا الشريفة، تقوم الدار بنشر هذا الكتاب المتميز الذى يعتبر واحدًا من ضمن ما نشرته - وستقوم بنشره - الدار من الكتب العربية التى قام بتأليفها أو ترجمتها نخبة ممتازة من أساتذة الجامعات المصرية والعربية المختلفة.

وبهذا .. ننفذ عهدًا قطعناه على المضى قدما فيما أردناه من خدمة لغة الوحى، وفيما أرداه الله تعالى لنا من جهاد فيها.

وقد صدق الله العظيم حينما قال فى كتابه الكريم: ﴿ وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ وَسَتُرَدُّونَ إِلَى عَالِمِ الغَيْبِ وَالشَّهَادَةِ فَيُنَبِّئُكُم بِمَا كُنتُمْ تَعْمَلُونَ﴾.

محـمـد أحـمـد دربـالـه

الدار العربية للنشر والتوزيع

المقدمة

تُعد التربية لمقاومة الأمراض والآفات من مجالات العلوم الزراعية التى تشهد تطورات سريعة ومتلاحقة، ولقد مرت أربعة عشرة عامًا على صدور كتابى الأول فى هذا المجال بعنوان "تربية النباتات لمقاومة الأمراض والآفات"، وهى فترة واكبها تقدمات وقفزات هائلة؛ الأمر الذى جعل من إصدار هذا الكتاب – الذى يعد أشمل وأكثر تقدمًا من سابقه فى تغطيته للموضوع – ضرورة ملحة.

يشتمل الكتاب على خمسة عشرة فصلاً وزِّعت على قسمين، ضم القسم الأول منها موضوع التربية لمقاومة مسببات الأمراض (أساسًا: الفطريات والبكتيريا والنيماتودا) واشتمل على أحد عشر فصلاً، بينما ضم القسم الثانى موضوع التربية لمقاومة الآفات (أساسًا: الحشرات والأكاروسات والنباتات الزهرية المتطفلة) واشتمل على الفصول الأربعة المتبقية.

يشهد القارئ فى هذا الكتاب توسعًا ملحوظًا فى جميع المواضع التى يغطيها، مع تخصيص فصول جديدة لمواضيع لم يكن لها وجود يذكر فى الكتاب الأول. وقد كانت أكبر التوسعات والإضافات فى الفصول الخاصة بالسلالات الفسيولوجية لمسببات الأمراض وتفاعلاتها مع جينات المقاومة (الفصل الرابع)، والمقاومة المستدامة (الفصل الخامس)، ووراثة المقاومة للأمراض (الفصل السادس)، وطبيعتها (الفصل السابع)، وطرق التقييم (الفصل الثامن) والتربية لمقاومتها (الفصل التاسع)، وكذلك مواضيع التربية لمقاومة الحشرات والأكاروسات (الفصل الثانى عشر)، وطبيعتها (الفصل الرابع عشر)، والتربية لمقاومة النباتات الزهرية المتطفلة (الفصل الخامس عشر) .. أما الفصول الجديدة فقد تناولت موضوع تطبيقات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات (الفصل العاشر)، والفطريات والبكتيريا والنيماتودا (الفصل الحادى عشر)، والحشرات (الفصل الثالث عشر)، كما شهد موضوع استخدام مزارع الأنسجة فى التربية لمقاومة الأمراض توسعات كبيرة ضمها الفصل التاسع من الكتاب.

لقد اعتمدت فى تأليف هذا الكتاب على مئات المراجع التى أشرت إليها فى المتن ودونتها فى نهاية الكتاب؛ لتكون مصادر علمية لمن يرغب فى مزيد من المعرفة فى أى من المواضع التى تناولها الكتاب بالشرح.

أرجو أن أكون بذلك قد وفقت إلى عمل يضيف جديدًا إلى المكتبة العلمية الزراعية، وما توفيقى إلا بالله.

أ. د. أحمد عبد المنعم حسن

محتويات الكتاب

القسم الاول

التربية لمقاومة مسببات الامراض

الفصل الأول

المقدمة

تمهيد

تُحدث الأمراض والآفات النباتية خسائر فادحة بالمحاصيل الزراعية والثروة النباتية، لا تقتصر على المباشرة منها فقط من جراء الإصابات، وإنما تتضمن – كذلك – التكلفة الباهظة لإجراءات الوقاية منها أو مكافحتها؛ هذا .. فضلاً عما قد تحدثه من مآس إنسانية عندما تحدث فى صورة أوبئة مدمرة.

أمثلة لبعض الأوبئة المرضية الهامة

إن من أهم وأكبر الأوبئة المرضية النباتية التى حدثت عبر التاريخ الحديث نسبيًّا، ما يلى:

1 – وباء الندوة المتأخرة – الذى يسببه الفطر Phytophthora infestans – والذى أصاب البطاطس فى أيرلندا خلال أربعينيات القرن التاسع عشر؛ فبينما تطلب الأمر أكثر من قرنين من الزمان حتى أصبحت البطاطس مقبولة كغذاء للإنسان فى شمال أوروبا – بعد نقلها إلى أوروبا من أمريكا الجنوبية – فإن الأمر لم يستغرق سوى عقدين من الزمان لظهور أول وباء بالندوة المتأخرة. أدى هذا الوباء – فى أيرلندا – وعلى مدى عدة سنوات – إلى وفاة ما لا يقل عن مليون أيرلندى، وإلى هجرة ما لا يقل عن 1.5 مليون شخص آخر بصورة دائمة، انتقل معظمهم إلى الولايات المتحدة وكندا؛ وهو أمر ما كان ليحدث لو أن الأيرلنديين زرعوا عديدًا من طرز البطاطس – كما كان يفعل الهنود الحمر آنذاك – بدلاً من قصر الزراعة على عدد قليل من الطرز التنُقلت إليهم من أمريكا الجنوبية.

2 – حدث مجاعة فى البنغال خلال الفترة من 1942 إلى 1944 من جراء إصابة الأرز بمرض البقع البنية الذى يسببه الفطر Helminthosporium oryzae (= Cochliobolus miyabeanus)، وهو الذى أودى بحياة أكثر من 1.5 مليون إنسان، وربما وصل الرقم إلى 3 ملايين (عن Stuthman 2002).

3 – وباء لفحة أوراق الذرة الجنوبية فى الولايات المتحدة فى عامى 1970، و 1971:

عُزِلَ الفطر Helminthosprium maydis – المسبب لمرض لفحة أوراق الذرة الجنوبية souther corn leaf blight – لأول مرة – من عينات مصابة بأحد حقول الذرة فى ولاية أيوا الأمريكية فى عام 1969. ولقد أوضحت الدراسات التى أجريت عقب ذلك مباشرة حساسية جميع سلالات الذرة التى تحتوى على جين العقم الذكرى السيتوبلازمى Tcms لهذا الفطر، بينما لم تُظهر النباتات الخالية من هذا الجين سوى أعراضًا ضعيفة لدى عدواها بالفطر. وفى العام التالى مباشرة انتشر المرض بصورة وبائية؛ مما أدى إلى خسائر فى المحصول وصلت فى بعض المناطق إلى 50%-100%. وقد أرجع ذلك الانتشار السريع جدًّا للمرض إلى أن نحو 85% من المساحة التى كانت مزروعة بالذرة فى الولايات المتحدة حينئذٍ كانت تحتوى على السيتوبلازم Tcms الشديد الحساسية لسلالة جديدة من الفطر أعطيت الرمز T تمييزًا لها عن السلالة الأصلية 0 التى كانت أقل ضراوة (عن Strange 1993).

مدى شيوع المناعة والمقاومة والقابلية للإصابة فى الطبيعة

هل تعنى كثرة الإصابات وانتشار الأوبئة انعدام المناعة ضد المسببات المرضية فى الطبيعة؟ إن الإجابة القاطعة على هذا التساؤل هى بالنفى؛ ذلك لأن مسببات الأمراض المعروفة فى الطبيعة تُعدُّ بالآلاف، بينما لا يُصاب أى نوع نباتى سوى بعدد محدود منها يعد بالعشرات، ونادرًا ما يتجاوز المائة أو المئتين. ويعنى ذلك أن معظم الأنواع النباتية تعد - بطبيعتها - منيعة - أو على درجة عالية جدًّا من المقاومة - ضد غالبية المسببات المرضية؛ فبينما قد يمكن للمسبب المرضى اختراق عديد من الأنواع النباتية، إلا أنه لا يمكنه الاستمرار فى النمو وإحداث إصابة مرضية إلاّ فى قليل جدًّا من تلك الأنواع النباتية.

وقد تطورت تلك المناعة - على مر العصور - من جرّاء تواجد العائل والطفيل معًا مع حدوث الانتخاب الطبيعى - بصورة دائمـة – لصالح الطرز النباتية المقاومة لتلك الآفات. ويدل على ذلك أن تعريض العشائر الطبيعية للنباتات فى المناطق الجغرافية المعزولة لطفيل جديد على تلك المناطق يؤدى – أحيانًا – إلى حدوث إصابات وبائية بتلك الطفيليات، وقد يوحى ذلك بأن المناعة الطبيعية ليست على قدر كبير من الشيوع والانتشار، إلاّ أن ذلك منافٍ لواقع الحال.

ومن أمثلة الأوبئة التى حدثت من جراء تعرض الثروة النباتية الطبيعية المعزولة لمسببات مرضية لم يسبق تعرضها لها من قبل تلك التى حدثت فى الولايات المتحدة بالنسبة لأمراض: لفحة أشجار الكستناء **chestnut blight**، والصدأ البثرى لأشجار الصنوبر الأبيض **white pine blister rust**، ومرض أشجار الدردار **Dutch elm disease** الذى قضى على جانب كبير من أشجار الدردار فى الولايات المتحدة، وحفز المهتمين بهذه الشجرة إلى البحث عن مصدر لمقاومة هذا المرض، إلى أن وجدوا ضالتهم فى شجرة وحيدة بعد ثلاثين عام من الدراسة (**Miller 1966**).

وعلى الرغم من الخسائر الاقتصادية الفادحة التى تسببها الأمراض النباتية – على مستوى العالم – سنويًّا، فإن الحقيقة هى أن المرض هو الاستثناء – وليس القاعدة – فى النباتات؛ فالنباتات تمتلك آليات دفاعية ضد الإصابة بجميع الكائنات الدقيقة تقريبًا، ولكن – وكاستثناء من تلك القاعدة – فإن قليلاً من المسببات المرضية هى التى يمكنها التغلب على تلك الآليات الدفاعية وإحداث الأمراض. وكقاعدة .. فإن المدى العائلى لجميع المسببات المرضية – مهما اتسع – يبقى محدودًا للغاية إذا ما قورن بأعداد الأنواع النباتية المعروفة. وعلى سبيل المثال .. نجد أن الفطر **Pyricularia oryzae** يصيب الأرز

ولا يمكنه إصابة الطماطم، بينما نجد أن الفطر **Alternaria solani** يصيب الطماطم ولا يمكنه إصابة الأرز. والأغلب الأعم أن النبات يتعرف على الكائنات الدقيقة التى لا يمكنها إصابته (الـ **nonpathogens** بالنسبة له) ويعزلها عنه حتى لا تتمكن من إصابته، كما يتعرف على الكائنات الدقيقة التى يمكنها إصابته (الـ **pathogens** بالنسبة له)، ولا تكون لديه القدرة على مقاومتها بقدر يكفى لمنع تمكنها منه؛ فتحدث الإصابة المرضية (عن **Vidhyasekaran 1988**).

ومن ناحية أخرى .. فإنه ما أن تثبت إصابة نوع نباتى معين بمسبب مرضى ما، فإن القابلية للإصابة تكون هى القاعدة، بينما تكون مقاومة بعض سلالات أو طفرات هذا النوع هى الاستثناء، أما المناعة التامة – فى هذا النوع النباتى ضد هذا المسبب المرضى – فإنها تكون نادرة الحدوث.

وتُظهر جميع الأنواع النباتية آليات مختلفة لمقاومة مختلف المسببات المرضية والآفات، وكثير منها تكون فعالة ضد مجموعات كاملة من المتطفلات؛ فيما يعرف باسم المقاومة العريضة **broad resistance**. وللتدليل على ذلك نذكر آلية تكوين الفيتوألاكسينات التى تُنتج بواسطة كل الأنواع النباتية تقريبًا، والتى تكون مسئولة عن عديد من حالات المقاومة العريضية؛ فكل نوع نباتى ينتج فيتوألاكسينات خاصة به؛ فالفاصوليا تنتج الفاصيولين **phaseolin**، والبسلة تنتج البزاتين **pisatin** ... إلخ. وقد تمكنت المسببات المرضية التى تغلبت على تلك المقاومة العريضة فى تلك الأنواع من التخصص عليها. فمثلاً .. نجد فى الفاصوليا أن الفطر **Colletotrichum lindemuthianum** يقوم إما بتحليل الفاصيوليين أو تحمله، بينما يمنع الفطر **Uromyces appendiculatus** حث إنتاج الفاصيولين.

وتنتمى معظم المسببات المرضية لمحاصيلنا الزراعية إلى تلك الفئة المتخصصة، التى تتميز بضيق نطاق عوائلها، مثل Puccinia hordei الذى يتخصص على الشعير، و Phytophthora phaseoli الذى يتخصص على فول الصويا، إلاّ أن هناك من المسببات المرضية مالايكون شديد التخصص (generalists)، مثل Phytophthora cinnamoni الذى يسبب عفنًا جذريًّا فى عديد من الأنواع النباتية الخشبية التى تنتمى إلى عائلات متباعدة، و Sclerotinia sclerotiorum الذى يصيب أنواع نباتية تنتمى لأكثر من 60 عائلة. هذا .. وتوجه معظم جهود التربية نحو المسببات المرضية الأكثر تخصصا (عن Parlevliet 2002).

نبذة تاريخية

لوحظ منذ زمن بعيد وجود اختلافات بين الأصناف فى درجة تحملها للأمراض؛ فقد ذكر Theophrastus - فى القرن الثالث قبل الميلاد - أن النباتات تختلف فيما بينها فى درجة تحملها للأمراض. وقد استخدمت فى الزراعة أصناف كثيرة مقاومة للأمراض قبل أن يبدأ أى جهد عملى فى مجال التربية لهذا الغرض. وفى منتصف القرن التاسع عشر لاحظ T. A. Knight – فى إنجلترا – أن أصناف القمح تختلف فى درجة مقاومتها للصدأ. وبعد ذلك بسنوات قليلة ذكر M. I. Berkeley أن أصناف البصل البيضاء تصاب بشدة بمرض الاسوداد (التهبب)، بينما لا تصاب الأصناف ذات الأبصال الملونة. وفى عام 1880 تمكن Millardet - فى فرنسا – من إنتاج عنب مقاوم لمرض البياض الدقيقى بتلقيح الأصناف الأوروبية - القابلة للإصابة بالمرض – مع الأصناف الأمريكية المقاومة. وفى عام 1898 وجد أن المقاومة للصدأ فى القمح تُورَّث. ومع تعرف مزيد من الحقائق عن الاختلافات بين الأصناف فى مقاومتها للأمراض .. أصبح الطريق ممهدًا - بعد اكتشاف نتائج دراسات مندل عام 1900 - لدراسة وراثة المقاومة، والتربية لهذا الغرض.

وقد نشر Biffen فى عام 1905 أول دراسة عن مقاومة الأمراض فى النباتات، وكان ذلك عن مقاومة مرض الصدأ الأصفر فى القمح. فقد أجرى Biffen تلقيحًا بين صنف مقاوم وآخر قابل للإصابة، ولاحظ انعزال فى الجيل الثانى بنسبة 3 قابل للإصابة:1 مقاوم، واستنتج أن المقاومة يتحكم فيها عامل وراثى واحد متنحٍ، هذا .. إلا أن الأصناف المقاومة فى منطقة ما لم تكن مقاومة فى منطقة أخرى، مما أدى إلى إثارة الشكوك حول نتائج دراسات Biffen بشأن الوراثة المندلية لمقاومة الأمراض. وقد عرف - فيما بعد - أن تلك الحالة كان مردها إلى ظهور سلالات جديدة من الفطر المسبب للمرض.

ويعتبر W. A. Orton أول من باشر بإجراء برامج تربية بهدف إنتاج أصناف مقاومة للأمراض، حيث قام أولاً بتقييم أعداد كبيرة من النباتات – فى بداية القرن العشرين – بهدف البحث عن مصادر لمقاومة الذبول الفيوزارى فى اللوبيا والبطيخ والقطن؛ ففى اللوبيا .. انتخب أكثر الأصناف مقاومة تحت ظروف الحقل، ووجد أن الصنف Iron كان مقاومًا لكل من الذبول الفيوزارى ونيماتودا تعقد الجذور، وهو يعد أول الأصناف التى عرفت بمقاومتها للنيماتودا فى النباتات. وعندما لقح Orton هذا الصنف بأصناف أخرى قابلة للإصابة، وجد أن نباتات الجيل الأول كانت متجانسة فى مقاومتها لكلا الطفيلين: فطر الذبول، ونيماتودا تعقد الجذور. وبالنسبة للبطيخ فشل Orton فى العثور على مصدر جيد لمقاومة الذبول من بين الأصناف المزروعة، بينما وجد المقاومة فى إحدى سلالات الحنظل البرى Citron. وقد حاول Orton نقل صفة المقاومة من سلالة الحنظل إلى صنف البطيخ Eden بتهيجنهما معاً. أجرى Orton هذا التهجين قبل اكتشاف قوانين مندل، ومع استمرار الانتخاب أنتج - فى عام 1911 - الصنف Conqueror الذى كان - ولا يزال - شديد المقاومة للذبول الفيوزارى. وقد استخدم هذا الصنف كثيراً - فيما بعد - كمصدر لمقاومة الذبول الفيوزارى فى برامج التربية. ولكنه لم يزرع قط على نطاق تجارى واسع؛ لأنه لم يكن على المستوى المطلوب من حيث الصفات البستانية.

وبالنسبة لسلالات المسببات المرضية كان Erikson قد أوضح عام 1894 أن المسببات المرضية – على الرغم من أنها تتشابه مورفولوجيًّا – تختلف فى قدرتها على إصابة أنواع نباتية قريبة من بعضها البعض. وأعقب ذلك اكتشاف Barrus – فى عام 1911 – أن العزلات المختلفة للكائن الدقيق الواحد تتباين فى قدرتها على إصابة الأصناف المختلفة لنفس العائل.

وحتى عام 1934 .. كان قد نشر أكثر من 200 بحث عن وراثة المقاومة للأمراض، إلا أن الاهتمام بالتربية لمقاومة الأمراض ضَعُفَ بعد الحرب العالمية الثانية بعد انتشار استعمال المبيدات الفطرية. ومع ظهور سلالات جديدة من الطفيليات مقاومة للمبيدات، وظهور مشكلة سمية المبيدات للإنسان والحيوان .. ازداد الاهتمام مرة أخرى بالتربية لمقاومة الأمراض (Coons 1953، و Singh 1993).

ولمزيد من التفاصيل عن الجهود المبكرة التى بذلت فى مجال التربية لمقاومة الأمراض وحصر مصادرها فى النباتات المزروعة .. يراجع Vavilov (1951)، و Whitaker (1979)، و Dixon (1981)، كما قدم Roane (1973) عرضًا للاتجاهات المبكرة لجهود التربية لمقاومة الأمراض فى النباتات.

هذا .. ويعد كلا من John Charles Walker (Grau وآخرون 1995)، و Henry M. Munger (Mutschler 1988) من أبرز العلماء الذين أسهموا بجهد واضح وخلاق فى مجال تربية أصناف جديدة محسنة من الخضر المقاومة للأمراض - بطرق التربية التقليدية - خلال القرن العشرين، حيث كان لكل منهما نصيب وافر من الإضافات المتميزة فى هذا المجال، كانت بمثابة الأساس الذى بنيت عليه دراسات كثيرة لاحقة لها.

أهمية التربية لمقاومة الأمراض

تعد التربية لمقاومة الأمراض أحد أهم الأهداف فى برامج تربية النباتات، خاصة وأن بعض المسببات المرضية لا يمكن مقاومتها بأية وسيلة أخرى. ومع ازدياد الوعى بخطورة مبيدات الآفات على الإنسان والبيئة .. ازدادت أهمية ومكانة التربية لمقاومة الآفات بالنسبة لجميع المحاصيل الزراعية على حد سواء، ونجحت الأصناف المقاومة فى تجنيب المزارعين – فى جميع أنحاء العالم – خسائر تقدر ببلايين الدولارات، كما وفرت عليهم جزءًا كبيراً من تكاليف المقاومة الكيميائية.

وغنى عن البيان أنه بدون توفر الأصناف المقاومة للأمراض، لا يمكن زراعة بعض المحاصيل فى مناطق معينة من العالم؛ بسبب تواجد مسببات تلك الأمراض – فى هذه المناطق – بصورة ثابتة، ومن أمثلة تلك الحالات، الأصناف المقاومة للذبول الفيوزارى من الطماطم، والكرنب، والبطيخ، والقطن، وأصناف قصب السكر المقاومة للموزايك، وأصناف بنجر السكر المقاومة لفيرس التفاف القمة، وأصناف البرسيم الحجازى، والتبغ المقاومة للذبول البكتيرى.

وبرغم أن التربية لمقاومة الأمراض لم تنجح – فى غالبية محاصيل الحبوب الرفيعة – فى إنتاج أصناف ذات مقاومة ثابتة لبعض الأمراض كالأصداء، والتفحمات، والبياض الدقيقى – بسبب إنتاج مسببات تلك الأمراض لسلالات فسيولوجية جديدة أكثر ضراوة، وقادرة على كسر مقاومة تلك الأصناف – إلا أن الأصناف المقاومة نجحت فى منع ظهور تلك الأمراض بصورة وبائية، وبذا .. فإنها ساعدت على ثبات الإنتاج الزراعى من تلك المحاصيل.

إن من المسلم به أن التربية لإنتاج أصناف جديدة مقاومة للأمراض عملية بطيئة، إذ إنها تستغرق من 10-15 سنة (ربما كانت الفترة أقل من ذلك إن أمكن زراعة أكثر من جيل واحد من المحصول سنويًّا)، ومع ذلك .. فإن عملية إنتاج صنف جديد، واختباره، ونشر استخدامه تتطلب فترة أطول من ذلك.

وبمقارنة التربية لمقاومة الأمراض والآفات باستخدام المبيدات فى الزراعة يتبين مايلى:

1 – تكون تكاليف إنتاج الصنف الجديد المقاوم أقل بكثير من تكاليف إنتاج أى مبيد جديد.

2 – تكون تكاليف المحافظة على الصنف الجديد أقل من تكاليف الاستمرار فى عملية إنتاج المبيد.

3 – يكون الصنف مقاومًا لآفة معينة، بينما يكون المبيد ضارًا بالحشرات النافعة.

وإلى جانب ما تقدم ذكره ... فإن استخدام الأصناف المقاومة فى الزراعة يفيد فيما يلى:

1 – يقلل من خطورة استعمال المبيدات السامة للإنسان والحياة البرية، ولا يسهم فى تلوث البيئة كالمبيدات.

2 – يجعل الدورة الزراعية أكثر فاعلية فى مكافحة الأمراض.

3 – يخفض كثيراً من تكاليف مقاومة الأمراض.

وعلى الرغم من أهمية الأصناف المقاومة فإن المقاومة - مهما كانت قوتها - لا يجب أن تكون سببًا فى إهمال العمليات الزراعية التى من شأنها خفض شدة الإصابة؛ فيتعين - مثلاً - الاستمرار فى الدورة الزراعية حتى مع الأصناف المقاومة للأمراض التى تكون الإصابة فيها عن طريق المجموع الجذرى؛ لأن ذلك يؤدى إلى تقليل احتمال ظهور وانتشار سلالات فسيولوجية جديدة من المسبب المرضى.

الأمور التى تجب مراعاتها عند التربية لمقاومة الأمراض

يمكن القول إن التربية لمقاومة الأمراض نالت قدرًا من اهتمام مربى النبات أكبر مما ناله أى من أغراض التربية الأخرى، وهو – بلا شك – اهتمام فى محله، يمكن فهمه إذا ما عرفنا الخسائر التى أمكن تجنبها بإدخال صفة مقاومة الأمراض فى الأصناف المزروعة.

وتجب – عند التربية لمقاومة الأمراض – مراعاة الأمور التالية:

1 - وضع الصفات البستانية والحقلية دائمًا موضع الاهتمام، فالصنف الجديد المقاوم يجب أن يتساوى مع الأصناف التجارية المزروعة، أو يتفوق عليها، فى المحصول والصفات البستانية والحقلية الهامة إلى جانب مقاومته للأمراض. وقد سبقت الإشارة إلى صنف البطيخ Conqueror الذى أنتجه Orton فى عام 1911 كصنف شديد المقاومة لمرض الذبول الفيوزارى، ولكنه لم يلق إقبالاً لدى المزارعين؛ لرداءة صفاته البستانية.

2 - محاولة التنبؤ بما يمكن أن يصيب الصنف من أمراض أخرى بعد نقل صفة المقاومة لمرض ما إليه، فكثيرًا ما يكون أحد الأمراض على درجة عالية من الخطورة فى منطقة ما، ولكن يحدث – عند التغلب على المرض بإنتاج الأصناف المقاومة له – أن تعيش النباتات لفترة أطول، الأمر الذى يجعلها عرضة للإصابة بأمراض لم تكن ذات أهمية من قبل (Andrus 1953).

3 - محاولة الاستفادة أولاً من المقاومة التى توجد فى الأصناف التجارية والأصناف البلدية، فلا يعقل محاولة استغلال المقاومة التى توجد فى الأنواع البرية القريبة – مع كل ما يتطلبه ذلك من جهد لنقل صفة المقاومة – قبل التأكد من أن المقاومة لا تتوفر أصلاً فى الأصناف المزروعة.

4 - يجب الانتباه إلى مشكلة السلالات الفسيولوجية، واحتمالات كسر المقاومة، ولكن مع عدم إعطاء تلك المشكلة أهمية أكثر مما تستحق. إن إنتاج الأصناف المقاومة للأمراض يجب أن ينظر إليه على أنه برنامج مستمر، لأن السلالات الجديدة من المسببات المرضية قـد لا تسمح للصنف الجديد بالبقاء مقاومًا لفترة طويلة، وقد فقد بالفعل عدد كبير من مصادر المقاومة، وبالرغم من ذلك .. فإن الموقف لا يدعوا إلى التشاؤم، خاصة وأنه يتوفر كثير من الأصناف المقاومة التى بقيت مقاومتها ثابتة لسنوات عديدة.

5 - محاولة الاستفادة من أكبر عدد ممكن من جينات المقاومة المعروفة للمرض، للتغلب على سلالات المسبب المرضى، كما فى حالات مقاومة الطماطم لفيرس موزايك التبغ، ومقاومة القاوون لفيرس موزايك الخيار.

6 - محاولة الاستفادة من كل طرز المقاومة المعروفة للمرض، سواء أكانت قُدرة على تحمل المرض، أم حساسية مفرطة للمسبب المرضى، أم مقاومة لتكاثر وانتشار المسبب المرضى فى النبات، أم مناعة، أم مقاومة لناقل الفيرس Virus Vector فى حالة الأمراض الفيروسية.

7 - عدم إهمال مصادر المقاومة غير التامة إن لم تتوفر مصادر جيدة لمقاومة المرض؛ فبالتلقيح بين مصادر مختلفة للمقاومة ربما تظهر انعزالات فائقة الحدود Transgressive Segregations تكون أكثر مقاومة من أى من المصادر الأصلية. وحتى إن لم تظهر انعزالات فائقة الحدود فإنه يتعين عدم إهمال المستويات المتوسطة من المقاومة؛ لأنها أفضل – على أية حال – من القابلية التامة للإصابة.

ويدخل تحت المستويات المتوسطة من المقاومة ما يلى:

أ - حالات المقاومة الجزئية Partial Resistance؛ مثل مقاومة الطماطم للفطر Cladosporum fulvum، ومقاومة القاوون لفيروس موزايك الخيار، والفلفل لفيرس Y البطاطس.

ب - حالات مقاومة الحقل Field Resistance التى يسهل معها مكافحة المسبب المرضى بأقل مجهود، مثل: مقاومة الفلفل للفطر Phytopthora capsici (عن Clerjeau وآخرين 1981).

8 - عدم إهمال حالات القدرة على تحمل الإصابة:

إن النبات القادر على تحمل الإصابة Tolerant لا يحمل درجة متوسطة من المقاومة؛ إذ إنه قابل للإصابة، ولكنه يتحمل تلك الإصابة. ويُلجأ إلى القدرة على تحمل الإصابة عندما لا يتوفر مصدر جيد للمقاومة، إلا أن بعض المربين يترددون فى إدخال صفة القدرة على تحمل الإصابة فى برامج التربية، لأن النباتات التى تحمل هذه الصفة يمكن أن تؤوى أعدادًا هائلة من المسبب المرضى، الأمر الذى يزيد كثيراً من احتمال ظهور طفرات جديدة منها شديدة الضراوة. كما أن الإصابة قد تنتشر من هذه الأصناف إلى الأصناف الأخرى الأقل منها قدرة على تحمل الإصابة. ومع ذلك .. فإن القدرة على تحمل الإصابة يمكن – إن وجدت مع المقاومة فى نفس الصنف – أن تؤمن الصنف ضد الإصابات الشديدة فى حالة كسر المقاومة. وعمليًّا .. فإن ما يهم عند الانتخاب للقدرة على تحمل الإصابة هو التأثير النهائى للمسبب المرضى على الجزء الاقتصادى الذى يزرع من أجله المحصول.

ويتم الانتخاب للقدرة على تحمل الإصابة فى المراحل المبكرة لبرامج التربية، حيث يُبحث عن النباتات التى تعطى محصولاً جيدًا بالرغم من إصابتها بالمرض (Russell 1972).

9 - من الأهمية بمكان عدم الاعتماد على مصدر واحد للجيرمبلازم عند تربية الأصناف الجديدة التى يتوقع انتشار زراعتها على نطاق واسع، لأن الاعتماد على صنف واحد أو أصناف محدودة ذات أصل مشترك فى مساحات شاسعة يمكن أن يعرضها لإصابات مرضية وبائية غير متوقعة.

والأمثلة على ذلك عديدة، نذكر منا ما يلى:

أ - إصابة الشوفان فى الولايات المتحدة خلال الأربعينيات بوباء لفحة فيكتوريا Victoria Blight الذى يسببه الفطر Helminthosporium victoriae، بسبب انتشار زراعة عديد من الهجن القريبة من بعضها وراثيًا فى أكثر من 80% من مساحة الشوفان خلال عام 1945، حيث أدى ذلك إلى انتشار الوباء خلال عامى 1946 و 1947. وقد أمكن التغلب على تلك المشكلة بإدخال أصناف جديدة مقاومة للمرض فى الزراعة.

ب - إصابة الذرة فى الولايات المتحدة فى بداية السبعينيات (خلال عامى 1970 و 1971) بوباء لفحة أوراق الذرة الجنوبية التى يسببها الفطر Cochliobolus heteroetrophus؛ بسبب انتشار زراعة هجن من الذرة تعتمد على سيتوبلازم عقيم الذكر – كان قد حُصِل عليه من تكساس -T type cytoplasm - فى أكثر من 80% من مساحة الذرة. وقد أمكن التغلب على تلك المشكلة بإدخال أصناف جديدة مقاومة للمرض (Russell 1978).

10 - الاستفادة من الجينات التى تتحكم فى المقاومة لأكثر من مسبب مرضى، وكمثال على ذلك .. وجد Schroeder & Provvidenti (1970) أن جميع أصناف البسلة المقاومة لفيرس موزايك البطيخ رقم 2 - وعددها ثلاثون صنفًا - كانت كذلك مقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا الأصفر، كذلك كانت جميع الأصناف القابلة للإصابة بأحد الفيروسين قابلة للإصابة بالفيرس الآخر، وتبين أن جينًا واحدًا متنحيًا يتحكم فى المقاومة لكلا الفيروسين.

11 - تجنب استخدام جينات المقاومة المرتبطة بجينات أخرى تتحكم فى صفات غير مرغوب فيها إلا بعد كسر هذا الارتباط، إذ لا فائدة تُرجى من إنتاج صنف مقاوم لمرض ما، بينما يكون رديئًا فى صفات أخرى. ومن أمثلة ذلك ما لوحظ من وجود ارتباط قوى بين مقاومة البياض الدقيقى فى الخيار وبين حساسية النباتات لنقص عنصر المنجنيز (عن Walker 1965). كذلك لاحظ Kooistra (1971) وجود ارتباط قوى جدًا بين مقاومة البياض الدقيقى فى الخيار وبين لون الثمرة الأخضر الباهت، وهى صفة غير مرغوبة تجاريًا. هذا .. وقد تم كسر تلك الارتباطات فيما بعد.

كما أن صفة المقاومة لمرض ما قد تكون مرتبطة بالقابلية للإصابة بمرض آخر؛ فعلى سبيل المثال .. وجد Zink & Duffus (1970) علاقة قوية فى الخس بين المقاومة للبياض الزغبى والقابلية للإصابة بفيرس موزايك اللفت. ويعتقد أن تلك العلاقة مردها إلى السلالة PI91532 من Lactuca serriola التى حُصل منها على صفة مقاومة البياض الزغبى، والتى وجد أنها أيضًا قابلة للإصابة بالفيرس، وإن كانت بعض سلالات هذا النوع مقاومة لكلا المرضين. وقد تبين من الدراسات الوراثية – التى أجريت فى هذا الشأن – أن المقاومة لكل منهما يتحكم فيها جين واحد سائد، وأنهما يرتبطان فى نظام تنافرى، ويقعان على مسافة 12.5 ± 1.6 وحدة عبور من بعضهما البعض. هذا .. وتوجد صفتا المقاومة للبياض الزغبى والقابلية للإصابة بفيرس موزايك اللفت فى عدد من أصناف خس الرؤوس ذات الأوراق النضرة السهلة التقصف Crisphead؛ مثل: Calmar، و Valtemp، و Vaverde، و Imperial 410، و Imperial Triumph، و Valrio إلا أن مقاومة كلا المرضين توجد فى أصناف أخرى من مجموعة خس الرؤوس ذى المظهر الدهنى Butterhead؛ مثل May King، و Meikoningen، و Ventura، وأصناف من مجموعة خس الرومين مثل: Valmaine (عن Dixon 1981).

12 - توظيف أكبر قدر من الثروة النباتية المتاحة لأجل برنامج التربية:

يمثل صنف الأرز IR36 أحد أفضل الأمثلة على توظيف مصادر الثروة النباتية، وتوجيه التعاون الدولى والتعاون بين المختصين فى تربية النبات، وأمراض النبات، والحشرات الاقتصادية، وفسيولوجيا النبات، والمحاصيل لأجل إنتاج صنف متميز. استخدم فى إنتاج هذا الصنف 13 صنفًا من الأرز من ست دول مختلفة بالإضافة إلى النوع البرى Oryza nivara، وأجريت اختبارات المقاومة للأمراض والحشرات فى أربع دول.

ومن بين الأمراض والحشرات التى يقاومها هذا الصنف ما يلى:

green leaf hopper (Nephotettix virescens)

brown plant hopper (Nilaparvata lugens)

stem borer (Chilo sp.)

blast (Pyricularia oryzae)

bacterial blight (Xanthomonas campestris pv. oryzae)

tungaro virus

grassy stunt virus

هذا .. بالإضافة إلى تحمل هذا الصنف لعدد من حالات سُمية التربة (سمية العناصر)، والجفاف المحدود (عن Innes 1992).

13 - توجيه برنامج التربية نحو المقاومة المستدامة:

إن التربية لمقاومة الأمراض قد تعد مستدامة sustainable، أو غير مستدامة non sustainable حسبما إذا أدت إلى ثبات فاعلية جينات المقاومة، أم إلى سرعة تغلب المسببات المرضية عليها، على التوالى؛ ذلك أن جينات المقاومة تعد من الثروات الطبيعية التى تجب المحافظة عليها، فإذا ما أدت طريقة التربية المتبعة إلى فقد تلك الجينات سريعًا واحدًا تلو الآخر، فإن تلك الطريقة لا تنطبق عليها شروط الاستدامة، خاصة إذا ما أدى كسر المقاومة إلى الاعتماد على المبيدات فى الحد من الإصابة المرضية (عن Stuthman 2002).

الفصل الثانى

طرق تداول المسببات المرضية

تمهيد

نتناول بالدارسة فى هذا الفصل بعض الطرق العملية لأمراض النبات التى يتعين على المشتغل بالتربية لمقاومة الأمراض أن يكون ملمًّا بها. وإلى جانب هذه الطرق العملية .. فإن على المربى أن يكون ملمًّا - كذلك - بكثير من الحقائق المتعلقة بالمرض الذى يعمل عليه؛ من حيث المسبب المرضى، وأعراض المرض، والتفاعل بين العائل والطفيل، وتأثير العوامل البيئية فى كل منهما.

فبداية .. يتعين على المربى أن يتعرف على الطرق التى تمكنه من إنتاج اللقاح (المسبب المرضى أو مصدر العدوى) **Inoculum** بكميات تكفى لإجراء اختبارات التقييم، وفى الوقت المناسب لإجراء العدوى؛ ولذا .. يلزم أن يكون المربى ملمًّا بطرق زراعة المسببات المرضية المختلفة فى البيئات الصناعية، وطرق تحضير هذه البيئات، وتأثير مختلف العوامل البيئية على نمو المسببات المرضية بها. كذلك يلزم التعرف على طرق تقدير معدل النمو فى هذه البيئات الصناعية، وكيفية استخلاص اللقاح وتجهيزه فى صورة صالحة للحقن (العدوى) به، دون حدوث أى تسمم للنباتات **Phytotoxicity** من البيئة ذاتها.

ومن المعلوم أن الطفيليات الإجبارية **Obligate Parasites** (مثل: فطريات الأصداء، والبياض الدقيقى، والبياض الزغبى، وكل النيماتودا، والفيروسات التى تسبب أمراضًا نباتية) لا يمكنها النمو فى البيئات الصناعية؛ ولذا .. كثيراً ما يلجأ المربى إلى استخدام أجزاء نباتية مصابة كمصدر للعدوى بها. ومع ذلك .. فقد أمكن زراعة عديد من فطريات الأصداء فى بيئات صناعية ذات مواصفات خاصة، كما أمكن تربية النيماتودا المسببة للأمراض النباتية فى مزارع الأنسجة.

كذلك يتعين على المربى الإلمام بطرق الحصول على مزارع نقية من جراثيم أو خلايا مفردة **Monospore Cultures**؛ ليمكن تحديد التركيب الوراثى للقاح المستخدم فى التقييم.

كما يتطلب العمل بعزلة معينة من المسبب المرضى المحافظة عليها لفترة طويلة دون أن تفقد حيويتها، أو تتعرض لتغيرات وراثية، وهو ما يتطلب إلمام المربى بأفضل الطرق لتحقيق هذا الهدف.

ومن الأهمية بمكان إلمام المربى بطرق عزل المسببات المرضية من التربة أو من الأنسجة المصابة، علمًا بأنه تتوفر طرقًا عديدة لتحقيق ذلك، تختلف من مسبب مرضى لآخر، وتركز جميعها حول محاولة عزل المسبب المرضى منفردًا، وبعيدًا عن الكائنات الدقيقة الأخرى التى تكون موجودة معه.

وبعد عزل وإنتاج المسبب المرضى .. يتعين إلمام المربى بطرق قياس تركيز اللقاح المستخدم **Inoculum** فى صورة عدد معين من الخلايا البكتيرية، أو الجراثيم الفطرية، أو الأجزاء المعدية من المسبب المرضى فى كل ملليلتر من المعلق المستخدم فى الحقن، سواء أكان التقدير مباشرًا، أم بطرق غير مباشرة.

وإلى جانب ما تقدم بيانه .. فإن على المربى أن يكون ملمًّا بالحقائق العلمية المتعلقة بحدوث الإصابة، والطرق التى يُحدث بها المسبب المرضى الإصابة، والكيفية التى تحدث بها الأعراض المرضية؛ ليتسنى فهم طبيعة المقاومة للمرض؛ فمثلاً .. يجب أن يكون المربى ملمًّا بالخطوات والتغيرات التى تصاحب إنبات الجراثيم فى التربة، وتأثير إفرازات الجذور **Root Exudates**، والكائنات الدقيقة التى تعيش بالقرب من الجذور **Rhizosphere Microflora** فى هذا الشأن. كما يلزم التعرف على الطريقة التى يحدث بها الاختراق **Penetration**، والخطوات التى تسبق وتصاحب عملية الإصابة **Infection**، وكيف يتمكن المسبب المرضى – بالوسائل الميكانيكية والكيميائية – من التغلب على العقبات التى يضعها العائل فى طريقه.

وفى هذا الفصل .. نلقى الضوء - باختصار - على كثير من هذه الأمور، أما تفاصيلها فيمكن الرجوع إليها فى أحد المصادر المتخصصة؛ مثل:

المرجع	الموضوع
Alexopoulos & Beneke (1962)	الطرق المعملية لدراسة الفطريات
Maramorosch & (1967) Koprowski	الطرق المعملية لدراسة الفيروسات
(1972) Kadd & Agrawal	أساسيات وطرق دراسة الفيروسات
(1984) Hill	الطرق العملية لدراسة الفيروسات
(1984) Green	مختصر للطرق العملية لدراسة الفيروسات
Dhingra & Sinclair (1985)	الطرق المعملية لدراسة البكتيريا والفطريات، مع شرح لمئات من بيئات الزراعة المناسبة لنمو وتجرثم مختلف الأنواع الفطرية.
(1995) Bos & Parlevliet	المصطلحات المستخدمة فى مجال أمراض النبات
(1983) CMI	أساسيات وطرق دراسة مختلف مسببات الأمراض
Starr وآخرون (2002)	شامل للنيماتودا
(2002) Hull	شامل لكل أساسيات الفيرولوجى والطرق التى تتطلبها دراسة الفيروسات
Waller وآخرون (2002)	شامل

طرق التطهير والتعقيم

المصطلحات المستخدمة

1 - التعقيم Sterilization:

يقصد بالتعقيم التخلص من جميع مظاهر الحياة فيما يتم تعقيمه من بيئات، أو مواد، أو أدوات، أو تربة ... إلخ، ويطلق على المواد التى تستخدم فى التعقيم اسم معقمات.

2 - التخلص من الإصابة Disinfection:

يعنى بذلك تخليص الكائن الحى مما يوجد به من إصابات بكائنات أخرى باستخدام ما يعرف باسم Disinfectants. وإذا استخدم المصطلح مع أشياء غير حية كالأدوات، والحوائط، والأرضيات - وهو استخدام غير دقيق - فإنه يعنى تخليصها مما قد يوجد بها من كائنات دقيقة ممرضة.

3 - مضادات الكائنات الدقيقة Antiseptics:

يعنى بذلك المواد التى تمنع، أو توقف نشاط الكائنات الدقيقة، أو تقتلها، وتستخدم هذه المواد - عادة - مع الأنسجة الحية.

4 - المطهرات السطحية Disinfestants:

يستخدم هذا المصطلح للدلالة على المركبات أو العوامل الفيزيائية التى تستخدم فى التخلص من الكائنات الدقيقة التى توجد على الأسطح النباتية، أو فى بيئة النبات، أو على الأشياء غير الحية.

وتستخدم اللاحقة cide فى آخر الكلمات لتعنى "القاتل" (مثل: bactericide، و Fungicide)، بينما تستخدم اللاحقة stat لتعنى "موقف النمو" أو "مانع النمو" (مثل: bacteristat، و fungistat).

إجراءات النظافة والوقاية من التلوث

يتعين توخى إجراءات النظافة العامة فى مختبر التربية لمقاومة الأمراض؛ لتجنب تلوث مزارع المسببات المرضية بكائنات غير مرغوب فيها، حيث تلزم مراعاة ما يلى:

1 - النظافة العامة المستمرة للمختبر.

2 - منع دخول الهواء المحمل بالأتربة بغلق النوافذ واستعمال أجهزة تكييف الهواء عند الضرورة.

3 - ارتداء ملابس وأحذية نظيفة أثناء العمل فى المختبر.

4 - استعمال هواء مرشح فى حجرات عزل المسببات المرضية.

5 - تعقيم مزارع مسببات الأمراض التى يرغب الباحث فى التخلص منها - فى الأوتوكليف - قبل فتحها لغسيلها.

6 - الحرص عند تداول العينات، أو البقايا النباتية، أو التربة الحاملة لجراثيم الفطريات؛ لمنع تلوث المختبر بها.

7 - تنظيف الزجاجيات جيدًا بالماء والصابون والفرشاة قبل استخدامها. ويعتبر حامض الكروميك Chromic Acid أكثر المحاليل استخدامًا لتنظيف الزجاجيات لأغراض الدراسات الكمية، وللتخلص مما قد يوجد بها من صبغات. يحضر الحامض بوضع 250 مل من حامض الكبريتيك المركز فى دورق مخروطى سعة 500 مل، ووزن 20-30 جم من ثانى كرومات البوتاسيوم، ثم إضافاتها ببطء مع التقليب بقضيب زجاجى إلى أن يتفاعل كل حامض الكبريتيك مع الملح المضاف، ويتبقى ما يزيد منه مترسبًا فى قاع الدورق. يخزن حامض الكروميك فى زجاجة حامض، ويغلق جيدًا بسدادة زجاجية، ويوضع على قاعدة خشبية لاستقبال قطرات الحامض التى قد تنزلق على جانب الزجاجة.

المطهرات

من أكثر المحاليل المطهرة Disinfecting Solutions استخدامًا ما يلى:

1 – محلول كلوريد الزئبقيك Mercuric Chloride بتركيز واحد فى الألف:

يستخدم هذا المحلول لتطهير الأيدى، والأسطح التى يجرى العمل عليها، والعينات النباتية، ويحضر بإذابة جرام واحد من كلوريد الزئبقيك فى لتر ماء. وتتوفر أقراص من كلوريد الزئبقيك موزونة سلفا، وتحتوى على صبغة مميزة للتحذير.

2 – محلول الهيبوكلوريت Hypochlorite Solution:

يستخدم هذا المحلول فى تطهير العينات النباتية، ويحضر بإضافة 30 جم من هيبوكلوريت الكالسيوم إلى 420 مل ماء، مع الرج جيدًا، ثم الترشيح فى دوق مخروطى وإغلاقه بإحكام. كما يمكن استخدام الكلوراكس التجارى فى تحضير محلول الهيبوكلوريت بعد تخفيفه بالماء بنسبة 10:1، ويحضر المحلول أولاً بأول حسب الحاجة إليه.

ويراعى عند الرغبة فى تطهير العينات النباتية - التى يصعب بلّها تمامًا بالمحلول المطهر - غسلها بكحول إيثيلى 70%، أو بمحلول المادة مبللة مثل التوين 20 Tween 20 (نقطة أو نقطتان فى لتر ماء) قبل معاملتها بالمطهر.

المعقمات ومعاملات التعقيم

فيما يلى بيان بأهم المركبات الكيميائية، والمعاملات الفيزيائية التى تستخدم فى التعقيم:

السوائل والمحاليل

1 - الكحولات Alcohols:

إن أهم الكحولات التى تستخدم لأغراض التعقيم هى كحول الإثيل Ethyl، والأيزوبروبيل Isopropyl، والبنزيل Benzyl. ويعاب على الكحولات أنها ليست قاتلة للجراثيم البكتيرية. ويعتبر كحول الإثيل المطلق (100%) أقل فاعلية - فى قتل البكتيريا - من الكحول المخفف ببعض الماء. وأفضل تركيز لهذا الغرض يتراوح من 60% إلى 80%. وتزداد سمية الكحولات كمعقمات كلما ازداد وزنها الجزيئى، ولذا .. فإن كحول الأيزوبروبيل أكثر سمية من كحول الإثيل.

2 – الفينولات Phenols:

تعمل الفينولات إما كمعقمات Germicides، أو كموقفات لنشاط الكائنات الدقيقة Germistatic، ويتوقف ذلك على تركيزها. وتكون بعض الفينولات شديدة الفاعلية ضد الفطريات. وتزداد فاعلية الفينولات عند احتوائها على الكلور أو الهالوجنيات الأخرى. تستخدم الفينولات بتركيزات منخفضة، وهى سامة للإنسان ويلزم تجنب ملامستها أو استنشاقها.

3 - المعادن الثقيلة وأملاحها:

إن أهم المعادن الثقيلة هى: الزئبق، والفضة (وكلاهما قاتل للبكتيريا والفطريات)، والنحاس (وهو قاتل للفطريات فقط). تكون هذه العناصر فعالة بتركيزات منخفضة للغاية، تصل فى حالة الفضة إلى جزء واحد فى كل 100 مليون جزء، وتكون هذه العناصر مثبطة فقط لنمو الكائنات الدقيقة فى التركيزات الأقل من ذلك.

4 - الهالوجينات **Halogens:**

يعتبر الفلورين أكثر الهالوجنيات سمية، يليه الكلورين والبرومين، بينما يعد الأيودين أقلها سمية. وبينما لا يشيع استخدام البرومين لما يسببه من مضايقات للعاملين به، فإن الكلورين يعد أكثرها استخدامًا ويستخدم لذلك هيبوكلوريت الصوديوم (الكلوراكس التجارى)، وهو يتبخر، لذا .. يلزم تحضيره أولاً بأول حسب الحاجة.

الغازات والأبخرة

إن أكثر المعقمات استخدامًا على صورة غازات، أو أبخرة هى تلك التى تستعمل للتخلص من البكتيريا، وهى: الفورمالدهيد، والأوزون، وأكسيد الإثيلين، وأكسيد البروبلين، وجميعها تستخدم فى تعقيم العينات النباتية أيًّا كانت، حيث توضع فى حيز مغلق لمدة لا تقل عن ثلاث ساعات مع كمية معينة من المركب (مثلاً .. يستعمل ملليلتر واحد من أى من أكسيد الإثيلين أو من أكسيد البروبلين/لتر من الحيز الذى تجرى فيه عملية التعقيم)، علمًا بأن أكسيد البروبلين يتبخر على درجة 33.9°م، بينما يتبخر أكسيد الإثيلين على 10.7°م، وبينما يكون الأول قابلاً للإشتعال، فإن الثانى متفجر، ولذا .. فإنهما يحفظان دائمًا فى الثلاجة.

أما الفورمالدهيد فإنه يستعمل أساسًا فى التعقيم السطحى بتركيز 5%-10% محلول فورمالين، ولكنه يستعمل - كذلك - على صورة غازية بتركيز يتراوح بين 3، و 10 مجم لكل لتر من حيز التعقيم.

ويحافظ التعقيم بالغازات على المركبات الحساسة للحرارة التى قد تفقد خصائصها المميزة إذا ما عقمت بالحرارة.

الحرارة

تعتبر "الحرارة الرطبة" Wet Heat (مثل: بخار الماء أو الماء) أكثر فاعلية من الحرارة الجافة Dry Heat (مثل الأفران) فى التخلص من الكائنات الدقيقة عند تساوى درجة الحرارة المستخدمة فى كليهما؛ حيث يكون انتقال الحرارة الرطبة أسرع، ونفاذيتها أكبر من الحرارة الجافة؛ ولذا .. فإن التعقيم بها يكون لفترة أقصر مما فى حالة التعقيم بالحرارة الجافة.

ويكفى - عادة - التعقيم لمدة 10 دقائق فى ماء يغلى للتخلص من الطرز الخضرية للكائنات الدقيقة، ولكن ذلك لا يكون كافيًا للتخلص من الجراثيم البكتيرية وبعض الجراثيم الفطرية. ويمكن التخلص من غالبية الجراثيم بتعريض البيئة التى يراد تعقيمها لماء يغلى لمدة 20-30 دقيقة يوميًا خلال ثلاثة أيام متتابعة. كذلك يتم التخلص من معظم الجراثيم لدى التعرض لحرارة 121°م لمدة 15-20 دقيقة، وهو ما يجرى فى الأوتوكليف.

ويلزم - عند استخدام الأوتوكليف - التخلص تمامًا مما يوجد فيه من هواء قبل السماح بزيادة الضغط بداخله، لأن الهواء يعد عازلاً حراريًّا جيدًا. وتحسب الفترة اللازمة للتعقيم - على درجة الحرارة المرغوبة - بعد وصول الحرارة داخل الأوتوكليف إلى تلك الدرجة. وتتوقف فترة التعقيم المناسبة على حجم الدوارق أو الأجسام التى يراد تعقيمها، حيث تزيد الفترة طرديًّا مع الزيادة فى الحجم؛ لضمان وصول جميع أجزاء المادة المعقمة إلى درجة الحرارة المرغوبة.

وتعقم البيئات والزجاجيات بالحرارة الرطبة (بخار الماء تحت ضغط) فى الأوتوكليف تحت ضغط 15 رطل/البوصة المربعة (510 نيوتن/م2) لمدة 15 دقيقة، علمًا بأن درجة حرارة بخار الماء تتوقف على مقدار الضغط الذى يتعرض له البخار، كما يلى:

الضغط (رطل / بوصة مربعة)	الحرارة (ْم)
5	**107**
7	**110**
10	**115**
15	**121**
20	**126**

هذا .. ويكون التعقيم باستخدام "الحرارة الجافة" – أى فى الأفران – على درجات حرارة أعلى مما يكون عليه التعقيم باستخدام "الحرارة الرطبة"، فمثلاً .. يكون التعرض لحرارة 160 ْم لمدة 60 دقيقة فى الفرن مساويًا - تقريبًا - للتعريض لحرارة 121 ْم لمدة 10-12 دقيقة فى الأوتوكليف. وتعقم الزجاجيات، والزيوت، والأدوات فى الأفران على 160-170 ْم لمدة ساعة ونصف الساعة إلى ساعتين.

تعقم الزجاجيات (وهى فى أكياس ورقية أو فى أى أوعية مغلقة لكى لا يحدث لها تلوث بعد تعقيمها) فى الهواء الساخن (فى أى فرن عادى، لكن مع عدم تكديسه بشدة للسماح بدوران الهواء فيه) لمدد تختلف حسب درجة حرارة الفرن، كما يلى:

الحرارة (ْم)	المدة
120	8 ساعات
140	3 ساعات
160	ساعة واحدة
180	20 دقيقـــة

يتعين حساب المدة التى تلزم للتعقيم بالحرارة الجافة - حسب درجة الحرارة - وذلك ابتداء من وصول حرارة الأشياء التى يُراد تعقيمها إلى درجة الحرارة المطلوبة؛ علمًا بأن هواء الفرن يسخن أسرع من الأشياء التى بداخلة. ويتطلب الأمر - عادة - زيادة فترة التعقيم المحددة - لكل درجة حرارة - بمقدار ساعة واحدة إلى ساعة ونصف؛ لضمان أن تكون الفترة المحددة - كلها - على درجة الحرارة المطلوبة.

ويجب أن تكون الزجاجيات جافة تمامًا قبل وضعها فى فرن التعقيم لأن الزجاجيات المبتلة قد تكسر.

يتعين بعد انتهاء فترة التعقيم ترك الفرن ليبرد هو وما بداخله تمامًا حتى درجة حرارة الغرفة، وذلك لتجنب حدوث أى تكسير فى الزجاجيات، وأى تلوث من جراء اندفاع الهواء الخارجى البارد إلى داخل الأشياء المعقمة.

أما التعقيم باللهب فإنه يستعمل فى تعقيم الأشياء المعدنية، مثل إبر النقل transfer needles وأطراف الملاقط، والأشياء الزجاجية، مثل فوّهات الدوارق المخروطية وأنابيب البيئات والشرائح الميكروسكوبية وأغطيتها، وأسطح بعض المواد البلاستيكية. وبينما تعرض الأشياء المعدنية لقمة اللهب - وهى بزاوية 45ْم - حتى الاحمرار، حيث تبقى معقمة مادامت ساخنة، فإن الأشياء الزجاجية تمرر عدة مرات على اللهب، مع تجنب وضعها فى الحال على سطح بارد حتى لا تتكسر.

الترشيح Filtration

يمكن فصل البكتيريا والكائنات الدقيقة الأكبر منها حجمًا عن معظم السوائل بالترشيح، ولكنه لا يفيد فى فصل الفيروسات. وإذا ما أريد الإبقاء على السائل المرشح معقمًا، فإنه يتعين تعقيم جهاز الترشيح والإناء الذى يستقبل فيه السائل المرشح قبل إجراء عملية الترشيح. وتعقم بهذه الطريقة جميع السوائل التى يتغير تركيبها إذا ما عقمت بالحرارة أو بالكيماويات.

ويستخدم فى تعقيم السوائل عدة أنواع من المرشحات، منها ما يلى:

Unglazed membranes	**Chamberland Filter**
Cellulose membranes	**Diatomaceous Earth Filters**
Ester membranes	**Asbestos Pad Filter (Seitz)**
Plaster-of-Paris Filters	**Sintered Glass Filters**

Millipore Filters

تختلف هذه المرشحات فى الشحنة الكهربائية التى تحملها، وفى سعة ثقوبها، وفى قدرتها على ادمصاص جزيئات معينة – مثل الإنزيمات والفيروسات – من السوائل التى تمر من خلالها، وفى صلاحيتها لتكرار استعمالها، وكذلك فى الوسائل المناسبة لتنظيفها عقب استخدامها.

التعريض للإشعاع Irradiation

يتميز التعقيم بالإشعاع بإمكان تجنب التأثير السلبى للحرارة العالية، وكثير من التغيرات الكيمائية التى يحدثها التعقيم بالحرارة، أو بالكيماويات .. وتقسم الأشعة التى تستخدم فى التعقيم إلى نوعين كما يلى:

1 – الأشعة المؤينة Ionizing Radiations:

من أمثلتها أشعة X، وأشعة جاما Gamma، وبيتا Beta، والنيترونات، والبروتونات، والديوترونات Deuterons ... إلخ. تستخدم هذه الأشعة فى تعقيم البيئات والأدوات التى يخشى عليها من الحرارة العالية، وهى تختلف من حيث قدرتها على اختراق الأجسام التى تكون فى طريقها، وتعد أشعة جاما أكثرها قدرة، يليها أشعة X.

2 – الأشعة الكهرومغناطيسية والأشعة فوق الصوتية Utrasonic Rays:

من أمثلتها الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet، وتحت الحمراء Infra Red، والموجات فوق الصوتية. وليس للأشعة تحت الحمراء تأثير قاتل على البكتيريا باستثناء تأثيرها الحرارى. وأكثر موجات الأشعة فوق البنفسجية تأثيرًا هى التى تتراوح أطوال موجاتها بين 240 و 280 مللى ميكرونًا. ونظرًا لأن قدرتها على اختراق الأجسام محددة .. لذا فإنها تستخدم فى تعقيم الأسطح والهواء (عن CMI 1983، و Dhingra & Sinclair 1985).

وسائل التعقيم السطحى بصورة عامة

تتنوع الطرق التى تستخدم فى التعقيم السطحى حسب طبيعة ما يُراد تعقيمه، كما يلى:

1 - تعقم الأجزاء النباتية (مثل البذور والجذور والسيقان والثمار) سطحيًّا بغمرها فى محلول السليمانى (كلوريد الزئبقيك) بتركيز 0.1% لمدة 5 دقائق، ثم شطفها عدة مرات بالماء المعقم.

2 - تعقم الأدوات المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ أو المغطاة بالكروم، مثل الملاقط، والمشارط، والمقصات ... إلخ بغمرها فى الكحول ثم تعريضها للهب.

3 - يعقم ورق الترشيح والمواد المشابهة له بتعريضها لأبخرة أكسيد البروبلين propylene oxide فى حيز مغلق لمدة 12-15 ساعة بتركيز حوالى 1 مل/لتر، ثم تهويتها جيدًا قبل استعمالها. هذا مع العلم أن أكسيد البروبلين شديد القابلية للتبخر والاشتعال، كما يعد سامًّا؛ لذا يتعين الحرص الشديد عند استعماله.

وبالمقارنة .. يعد أكسيد الإثيلين أكثر سمية وقابلية للاشتعال، كما أنه متفجر، ولكنه يكون آمنًا للاستعمال عند خلطة بثانى أكسيد الكربون، وهو يستعمل تجاريًّا فى تعقيم البوليثيلين والمواد البلاستيكية الأخرى.

4 - يستخدم هيبوكلوريت الصوديوم بتركيز 1% (محاليل التبيض التجارية مثل الكلوراكس مخففة إلى تركيز 20%) فى التعقيم السطحى للأوراق والأنسجة النباتية الأخرى بغمرها فيه لمدة 10 دقائق.

5 - يمكن استعمال الأشعة فوق البنفسجية فى عملية التطهير السطحية، إلاّ إنه لا يكون لها أى قدرة على الاختراق (عن CMI 1983).

طرق تعقيم البذور

يجب أن تكون البذور التى يراد تعقيمها سليمة تمامًا، وخالية من الجروح والإصابات الميكانيكية. وتعقم البذور بإحدى الوسائل التالية:

1 - غمر البذور فى مخلوط من الكلوراكس Chlorax، والإيثانول 95% بنسبة 1:1 لمدة دقيقة ونصف إلى دقيقتين، على أن تغسل بعد ذلك مباشرة - عدة مرات - بالماء المعقم، ثم تجفف باستخدام ورق ترشيح معقم.

2 - وضع البذور فى طبقة رقيقة فى طبق بترى، ويوضع بجانبها زجاجة ساعة بها ورقة ترشيح مطوية يوضع عليها أربع نقط من البانوجن Panogen (وهو مركب Methyl Mercury dicyandiamide بتركيز 2.2%). يغطى الطبق ويترك داخل كيس بلاستيكى فى حرارة الغرفة لمدة 48 ساعة، حيث تصبح البذور بعد ذلك معقمة تمامًا.

3 - غمر البذور فى حامض الكبريتيك المركز لمدة 30 دقيقة فى حرارة تقل عن 25°م مع التقليب كل عدة دقائق، ثم يصفى الحامض، وتغسل البذور بعد ذلك مباشرة من ثمانى مرات إلى تسع مرات بالماء المقطر المعقم، على أن تستخدم كميات كبيرة من الماء - خاصة فى المرة الأولى - لتجنب أى ارتفاع حاد فى درجة حرارة البذور. ويلى ذلك غسيل البذور فى 100 مل من الماء المقطر المعقم المضاف إليه 2-3 مل من 30% فوق أكسيد الأيدروجين.

تعقيم النيماتودا

يلزم تعقيم النيماتودا عند الرغبة فى نقلها إلى الآجار فى أنابيب الاختبار، أو عند الرغبة فى إكثارها على مزارع الجذور أو الكالس، وتتم عملية تعقيم النيماتودا كما يلى:

1 - يحصل على النيماتودا المرغوب فيها من التربة أو النباتات المصابة باستخدام قمع بيرمان Baermann، وتبدأ إجراءات التعقيم بعد ذلك مباشرة وهى مازالت فى حالة نشطة.

2 - تغسل النيماتودا 4-5 مرات بماء مقطر معقم، مع ترسيب النيماتودا - بعد كل مرة غسيل - باستخدام جهاز طرد مركزى، والتخلص من ماء الغسيل (الرائق العلوى) باستعمال ماصة.

3 - توضع النيماتودا بعد ذلك فى محلول Hibitane diacetate بتركيز 0.1-0.5%، لمدة 5-20 دقيقة، حيث يستخدم التركيز المنخفض - لفترة طويلة - مع النيماتودا الحساسة للمركب.

4 - تعقيم النيماتودا الحساسة لـ Hibitane بتعريضها 4-5 مرات لمخلوط، مكون من 200 جزء فى المليون من الـ malachite green، و 1000 جزء فى المليون من كبريتات الاستربتومايسين Streptomycin sulfate.

5 - تنقل النيماتودا بعد ذلك إلى مزارع الكالس، أو إلى مزارع الجذور، ويكون نقل النيماتودا إما مفردة باستخدام إبرة تشريح، وإما متجمعة بواسطة ماصة. ويمكن تحضير نسيج الكالس بتطهير بذور البرسيم الحجازى بواسطة محلول السليمانى، ومعاملة البادرات بالـ 2,4-D بتركيز 4 مجم/لتر لمدة دقيقة واحدة، ثم تنميتها لمدة أسبوع على بيئة White فى أنابيب اختبار.

تعقيم البيئات

يكون تعقيم كل أنواع البيئات فى الأوتوكليف على 121°م، وتتوقف المدة اللازمة لاكتمال التعقيم على حجم أوعية البيئات كما يلى:

الوعاء	المدة
دوارق مخروطية سعة 2000-3000 مل	20 دقيقة
دوارق مخروطية سعة 1000-1500 مل	15 دقيقة
دوارق مخروطية سعة 500 مل	12 دقيقة
دوارق مخروطية سعة 125-250 مل	10 دقائق
دوارق مخروطية سعة 50 مل	3-6 دقائق
أنابيب اختبار	3-6 دقائق

الماء المعقم

يطلق على أنابيب الاختبار التى يحفظ فيها الماء المعقم (ماء الصنبور أو الماء المقطر) اسم Water Blanks. ويوضع عادة نحو 10-15 مل من الماء فى كل أنبوبة اختبار، ثم تغلق بالقطن وتعقم. كما قد تستخدم أحجام مختلفة من الدوارق المخروطية لنفس الغرض. وتفيد الـ Water Blanks فى تخفيف البيئات المعقمة، وفى تحضير معقمات البكتيريا أو الجراثيم الفطرية ... إلخ.

بيئات زراعة مسببات الأمراض

البيئات الشائعة الاستخدام

1 - بيئة البطاطس والدكستروز والآجار Potato-Dextrose-Agar (PDA):

تستخدم هذه البيئة لمزارع الفطريات بوجه عام، وتحضر من المكونات التالية:

المكون	الكمية
شرائح بطاطس كاملة	200 جم
دكستروز	20 جم
آجار مطحون	17 جم
ماء	1000 مل

تقطع البطاطس إلى شرائح وتوضع فى 500 مل ماء على درجة الغليان لمدة 40 دقيقة. يسخن 500 مل أخرى من الماء إلى درجة الغليان، ثم يضاف إليها الآجار المطحون مع التقليب. ويراعى تقليل اللهب أثناء إضافة الآجار حتى لا يحدث فوران. يستمر التقليب لحين ذوبان كل الآجار. يلى ذلك إضافة الدكستروز إلى الآجار، ثم يضاف إليها مستخلص البطاطس، ويكمل الحجم إلى 1000 مل.

2 - بيئة البطاطس والدكستروز Potato-Dextrose-Broth (PDB):

تتشابه تمامًا مع بيئة الـ PDA، ولكن ينقصها الآجار، وبذا .. فهى بيئة سائلة.

3 - بيئة الآجار المغذى Nutrient Agar (NA):

تستخدم هذه البيئة لمزارع البكتيريا بوجه عام، وتحضر من المكونات التالية:

المكون	الكمية
مستخلص اللحم Beef Extract	3 جم
بيبتون Peptone	5 جم
آجار	17 جم
ماء	1000 مل

يسخن الماء إلى درجة حرارة الغليان، ثم يضاف إليه الآجار ببطء مع التقليب إلى أن يذوب، ثم تضاف بقية المكونات وتقلب إلى أن تذوب كذلك. ويلى ذلك إكمال حجم المخلوط (البيئة) إلى 1000 مل.

4 – بيئة المرق المغذية Nutrient Broth (NB):

تتشابه تمامًا مع بيئة الآجار المغذى، ولكن ينقصها الآجار، وبذا .. فهى بيئة سائلة.

5 - بيئة شورية الخضار Vegetable Juice (V-8):

تفيد هذه البيئة فى تحفيز تجرثم عديد من الفطريات، وتحضر من المكونات التالية:

المكون	الكمية
مخلوط عصير ثمانية خضروات V-8 (منتج تجارى)	200 جم
آجار	17 جم
ماء	800 مل

يسخن الماء إلى درجة حرارة الغليان، ثم يضاف إليه الآجار ببطء مع التقليب إلى أن يذوب، ثم يضاف العصير. ونظرًا لأن العصير يكون حامضيًّا بدرجة عالية (pH = 4.0) .. فإنه يجب رفع الـ pH إلى 6-7 باستخدام أيدروكسيد الصوديوم (1N).

6 - بيئة الآجار المائى:

يحتوى الآجار على كميات صغيرة من العناصر الغذائية التى يمكن أن تسمح بالنمو البطئ لبعض الفطريات. وتفيد بيئة الآجار والماء فى إنبات الجراثيم المفردة، وتحضر بإذابة 17 جم من الآجار فى 1000 مل ماء عند درجة حرارة الغليان.

7 - بيئة الآجار ودقيق الشوفان Oatmeal Agar:

تفيد هذه البيئة فى زراعة بعض الفطريات التى تصعب زراعتها مثل الفطريات التى تتبع الجنس Phytopthora، وهى تحضر من المكونات التالية:

المكون	الكمية
دقيق الشوفان	75 جم
آجار	20 جم
ماء مقطر	1000 مل

يخلط الدقيق مع 600 مل من الماء لمدة خمس دقائق فى خلاط، ويذاب الآجار فى 400 مل من الماء، ثم يخلط الجزآن. ويراعى رفع درجة حرارة مخلوط الشوفان مع الماء قبل خلطة مع الآجار والماء لمنع تجمدهما السريع. توضع البيئة فى زجاجات يمكن إحكام غلقها (لمنع الفوران)، ثم تعقم فى الأوتوكليف على 121°م لمدة 75 دقيقة.

البيئات الانتخابية

يحتاج الأمر أحيانًا إلى تحضير بيئات لا تسمح بنمو كائنات دقيقة معينة؛ كأن تسمح بنمو الفطريات ولا تسمح بنمو البكتيريا أو العكس، وهى التى تعرف باسم البيئات الانتخابية Selective Media، فمثلاً:

1 - يمكن تثبيط نمو الفطريات مع السماح بنمو البكتيريا بخفض pH البيئة. ويتحقق ذلك بإضافة حامض لاكتيك 50% بمعدل نقطة واحدة لكل 10-15 مل من البيئة قبل صب البيئة فى أطباق بترى مباشرة.

2 - يمكن تثبيط نمو البكتيريا مع السماح بنمو الفطريات بإضافة الـ Cristal Violet إلى بيئة الآجار المغذى - قبل تعقيمها - بمعدل 1:50000. كذلك يمكن تحقيق نفس الهدف بإضافة أى من مضادات الحيوية التجارية مثل الاستربتومايسين، والأوريوميسين، والبنسلين ... إلخ، بتركيز يتراوح عادة من 10-300 جزء فى المليون. ويفيد خلط إثنين أو ثلاثة من مضادات الحيوية بالبيئة فى زيادة أعداد الأنواع البكتيرية التى يوقف نموها. ويجب تعقيم محاليل مضادات الحيوية بالترشيح، وإضافتها إلى البيئات المعقمة عندما تصبح حرارتها حوالى 45°م؛ أى قبل تصلبها.

هذا .. ويحتاج عديد من المسببات المرضية إلى بيئات خاصة لعزلها وزراعتها، وتتوفر المئات من أمثلة هذه البيئات التى يمكن الرجوع إليها فى Dhingra & Sinclair (1985).

مزارع الجذور كبيئات لنمو النيماتودا

تستخدم مزارع الجذور root cultures كبيئات لنمو النيماتودا، وللتعرف على تفاصيل تحضير تلك المزارع واستخدامها .. يراجع Butcher (1980).

أوعية البيئات

تُفرَّع البيئات – بعد تحضيرها – إما فى أنابيب اختبار، وإما فى دوارق مخروطية بأحجام مختلفة. تملأ أنابيب الاختبار إلى ما يقرب من ربعها أو ثلثها فقط، وتغطى بسدادات قطنية. وتستخدم الدوارق المخروطية الصغيرة كمزارع للفطريات والبكتيريا؛ حيث يوضع فى قاعها طبقة رقيقة من البيئة. أما الدوارق الأكبر حجمًا فإنها تستخدم فى ملء أطباق بترى بالبيئة. ويكون تعقيم البيئات فى الأوتوكليف بعد تفريغها فى أنابيب الاختبار أو الدوارق المخروطية.

أنابيب البيئات المائلة

لزيادة سطح البيئات فى أنابيب الاختبار (بغرض زيادة المسطح الذى تنمو عليه البكتيريا، أو الفطريات) .. يسمح للبيئات – بعد تعقيمها – أن تتصلب وهى فى وضع مائل Slants. ويجرى ذلك إما بوضع أنابيب البيئات على لوح خاص مائل لهذا الغرض، وإما بوضع السلال المملوءة بأنابيب البيئات فى وضع مائل. ويراعى فى كلتا الحالتين عدم بل سدادات القطن بالبيئة؛ لأن ذلك يجعل من الصعب تحريك السدادات من مكانها، ويزيد من فرصة تلوث البيئات.

عزل المسببات المرضية

عزل الفطريات

لعزل الفطريات من النباتات، فإن الأجزاء المصابة تغسل أولاً فى الماء مع مسحوق الصابون، ثم تجفف بين مناشف ورقية. ويراعى أن تكون عملية الغسيل لفترة قصيرة بالنسبة للأعضاء النباتية الرهيفة كالأوراق الرقيقة وبتلات الأزهار، بينما قد يستمر الغسيل لمدة ساعة إلى ساعتين فى ماء جار بالنسبة للجذور.

ويلى غسيل الأجزاء النباتية تطهيرها سطحيًّا إما باستخدام هيبوكلوريت الصوديوم (الكلوراكس التجارى) بتركيزه 5%-10%، وإما باستخدام كلوريد الزئبقيك (محلول السليمانى) بتركيز 1:500، أو 1:1000، وتتراوح مدة المعاملة من عدة ثوان إلى عدة دقائق حسب العضو النباتى وتركيز المحلول المطهر. كما يمكن تطهير الأنسجة الخشبية بغمسها فى كحول إثيلى 70% ثم إشعال الكحول. تنقل أجزاء صغيرة من الأنسجة النباتية المصابة إلى سطح بيئة مغذية فى أطباق بترى، ثم توضع فى الحضان على 20-25°م لمدة 5-10 أيام. تستخدم بيئة البطاطس والدكستروز والآجار بصورة روتينية لهذا الغرض، بينما تستخدم بيئات خاصة لفطريات معينة؛ فمثلاً تستخدم بيئة الآجار والماء لعزل فطر الـ Pythium.

هذا .. ويمكن نقل التراكيب الفطرية التى توجد على النباتات المصابة - كالأجسام الحجرية، والميسيليوم، والجراثيم - مباشرة إلى بيئة الآجار. فمثلاً يمكن التقاط الأجسام الحجرية وتعقيمها سطحيًّا، والتقاط الجراثيم الكبيرة بإبرة تشريح معقمة، أو أخذ جزء من الجراثيم الكلاميدوسبورية لفطريات التفحم وتخفيفها بالماء قبل نقلها إلى المزارع فى أطباق بترى.

عزل البكتيريا

لعزل البكتيريا من النباتات تغسل الأجزاء المصابة بالماء، وتجفف كما سبق بيانه بالنسبة للفطريات. يلى ذلك قطع أجزاء صغيرة من الأنسجة المصابة لعمل سلسلة من التخفيفات، ويتم ذلك إما بوضع الجزء المصاب فى عدة نقاط من الماء المعقم فى طبق بترى، ثم تنقل نقطة منه إلى عدة نقاط من الماء المعقم فى طبق بترى آخر، وإما بإجراء التخفيف باستخدام سلسلة من أنابيب الاختبار التى يوضع بكل منها 9 مل من الماء المعقم يضاف إليها مل واحد من المعلق البكتيرى للتخفيف السابق. تستخدم هذه التخفيفات فى زراعة البكتيريا على بيئة الآجار المغذية، ثم تحضن المزارع على 20-25°م لمدة 5-7 أيام.

هذا .. وقد تغسل الأجزاء النباتية المصابة وتعقم سطحيًّا، ثم تزرع مباشرة على بيئة الآجار المغذية كما أسلفنا، أو قد يؤخذ النمو البكتيرى Bacterial Ooze مباشرة – إن كان ظاهرًا – ويخفف، ثم يزرع على البيئة.

عزل سلالات مفردة من الفيروسات

يمكن الحصول على سلالات مفردة من الفيروسات بعمل عدوى من البقع الصفراء اللون - فى الأوراق المصابة بالموزايك - أو من البقع المحلية Local Lesions، لتوفر عديد من الأدلة على أن كل بقعة محلية تنشأ من جزئ واحد من الفيرس، وبذا .. فإن استخدام البقع المحلية فى عدوى نباتات تحدث بها إصابات جهازية يعد طريقة عملية لإكثار سلالات الفيرس. ويتعين عند اتباع هذه الطريقة أن تكون البقع المحلية واضحة ومحددة، وأن يتم اختيار أفضل العوائل لهذا الغرض، فمثلاً: نجد أن N. glutinosa وبعض أصناف الفاصوليا تكون صالحة لعزل سلالات فيرس موزايك التبغ (عن Smith 1977).

ويقدم Kiraly وآخرون (1974) عرضًا للأسس العامة التى تراعى عند تنقية الفيروسات النباتية، مع شرح مفصل لطرق تنقية فيرس موزايك التبغ.

عزل النيماتودا

تعزل النيماتودا من التربة والنبات بأخذ عينات من الجذور النباتية والتربة المحيطة بها تمثل الأربعين سنتيمترًا العلوية من التربة. وتحفظ العينات فى أكياس بلاستيكية، ويراعى عدم تعرضها للجفاف، أو للحرارة العالية لحين عزل النيماتودا منها، وهو الأمر الذى يتعين إجراؤه فى غضون 24 ساعة من جمع العينات.

أولاً: عزل النيماتودا من التربة

تتبع عدة طرق لعزل النيماتودا من التربة، وهى تعتمد على أحجام النيماتودا التى تتباين حسب نوعها، وحسبما إذا كانت ذكرًا أم أنثى، كما فى جدولى (2-1)، و (2-2).

1 - الحوصلات Cysts:

تمر حوصلات (الإناث البالغة) للجنس Heterodera خلال مناخل مقاسها 25 مش mesh (أى المناخل التى توجد بها 25 ثقبًا فى البوصة الطولية)، ولكنها تبقى على المناخل التى يكون مقاسها 60 مش. هذا .. وتطفو الحوصلات الجافة على سطح الماء؛ ولذا .. يتم أحيانًا فصل الحوصلات بتجفيف عينة التربة، ثم تقليبها جيدًا فى كمية كبيرة من الماء، ثم تفريغها على منخل مقاس 25 مش، مثبت على منخل آخر مقاس 60 مش، حيث تتجمع الحوصلات على المنخل الأخير. ويمكن تجميع الحوصلات غير الجافة بتفريغ معلق التربة فى الماء خلال المنخلين.

2 - الديدان الثعبانية:

تعزل الديدان الثعبانية من عينات التربة باستخدام الطرق والأجهزة التالية:

أ – قمع بارمان Baermann Funnel:

يتكون قمع بارمان من قمع زجاجى ذى ساق زجاجية قصيرة مثبت بها أنبوبة مطاطية قصيرة يمكن فتحها أو إغلاقها بواسطة مشبك، ويثبت فى فوهة القمع شبكة سلكية أو بلاستيكية واسعة الفتحات، يوضع عليها نسيج مسامى رقيق كالحرير أو الكلينكس. توضع عينة التربة على النسيج المسامى، ويضاف الماء بالقدر الذى يكاد يبلل هذا النسيج، حينئذٍ تتحرك النيماتودا النشطة من العينة لتنفذ من خلال المسام إلى ساق القمع؛ لتستقر – بفعل حركتها والجاذبية الأرضية – فوق مستوى المشبك فى الأنبوبة المطاطية. وبذا .. فإنها تتجمع فى معلق مركز خال تقريبًا من حبيبات التربة والشوائب. تسحب النيماتودا من هذا المعلق حسب الحاجة، حيث تؤخذ العينات بعد مرور 6-72 ساعة من البداية.

جدول (2-1): أحجام مراحل النمو المختلفة لبعض أنواع النيماتودا.

	الأبعـاد			
النيماتودا	البيض	اليرقات	الإناث البالغة	الذكور البالغة
نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne spp.	115×55 ميكرون	(600-500)× (20- 25) ميكرون	(400-220)× (500- 800) ميكرون	--
النيماتودا الواخذة Belonolaimus spp.			2.15مم × 40 ميكرون	1.7مم × 35 ميكرونًا
النيماتودا الدبوسية Paratylenchus minutus	40×15 ميكرونًا		(15-12) × (240- 310) ميكرونًا	(10-9)× (270-220) ميكرونًا
النيماتودا الخنجرية Xiphinema index			3.40 مم	4.6 مم × 75 ميكرونًا

جدول (2-2): مقاسات وسعة ثقوب المناخل المستخدمة فى عزل النيماتودا.

المقاس : رقم الشبكة mesh(أ)	سعة الفتحات (ميكرون)	الاستخدامات
20	840	تحجز عليها المخلفات النباتية وحبيبات التربة الكبيرة
60	250	تحجز عليها حوصلات النماتودا
100	147	تحجز عليها النيماتودا الكبيرة الحجم
200	74	تحجز عليها النيماتودا من معظم الأحجام ما عدا الصغيرة جدًا
270	53	تحجز عليها النيماتودا من جميع الأحجام، ويمر السلت المعلق فى الماء من خلالها بسهولة
325	44	تحجز عليها النيماتودا من جميع الأحجام، ويمر السلت المعلق فى الماء من خلالها ببطء

(أ) عدد الفتحات فى البوصة الطولية.

تؤثر درجة حرارة الماء ومحتواه من الأكسجين فى نشاط وحركة النيماتودا، ولذا .. فإن إضافة أزرق الميثيلين تزيد من كفاءة عملية عزل النيماتودا بزيادة توفيره للأكسجين.

يوضع فى كل قمع بقطر 10 سم ملء ملعقتين صغيرتين من عينة التربة. وإذا سقطت بعض حبيبات التربة فى قاع الأنبوبة المطاطية فى بداية العمل يمكن التخلص منها بفتح المشبك .. وجدير بالذكر أن النيماتودا غير النشطة والنيماتودا الميتة لا تمر من خلال النسيج المسامى.

ب - الترسيب والنخل Decanting and Sieving:

يجرى عزل النيماتودا من عينات التربة بطريقة الترسيب والنخل كما يلى:

(1) توضع عينة تربة تقدر بنحو 300-400 سم3 فى دلو.

(2) يضاف نحو لترين من الماء إلى العينة وتقلب جيدًا، مع تكسير كل القلاقيل.

(3) يترك المخلوط لمدة 30 ثانية حتى تترسب حبيبات التربة الكبيرة الحجم.

(4) ينخل الرائق خلال منخل مقاس 20-25 مش فى دلو آخر، ويتم التخلص من البقايا التى تتجمع عليه.

(5) تكرر الخطوات من 1-4 مرتين إلى خمس مرات حسب الحاجة إلى عزل كل النيماتودا الموجودة فى العينة.

(6) يتم التخلص من الرواسب الموجودة فى الدلو الأول ويغسل بالماء.

(7) يفرغ المعلق الموجود فى الدلو الثانى خلال منخل مقاس 60 مش فى الدلو الأول.

(8) تغسل المتبقيات المحجوزة على المنخل (مقاس 60 مش)، وتنقل إلى كأس زجاجى. يحتوى هذا الجزء على الحوصلات التى قد تكون موجودة فى عينة التربة.

(9) يفرغ المعلق الذى مر خلال المنخل (مقاس 60) ببطء خلال منخل مقاس 200 أو 270 مش، مع جعله مائلاً ليتسنى جمع النيماتودا عند حافته.

(10) يمكن غسيل المتبقيات على المنخل (مقاس 200 أو 270 مش) فى كأس زجاجية برذاذ خفيف من الماء يوجه نحو الجانب الخلفى للمنخل، أو قد يمكن تصريف الماء الزائد الذى تتجمع فيه النيماتودا على حافة المنخل ثم نقل النيماتودا باستخدام ملوق.

جـ - الترسيب والنخل مع قمع بارمان:

توضع النيماتودا - بعد تجميعها بالترسيب والنخل - فى قمع بارمان، وبذا .. يمكن عزل نيماتودا خالية من السلت بدرجة أكبر مما لو اتبعت أى من الطريقتين منفردة.

ثانياً: عزل النيماتودا من العينات النباتية

يمكن عزل النيماتودا من الأنسجة النباتية بأى من الطرق التالية:

1 - الفحص المباشر بالمنظار الثنائى binocular، وإخراج النيماتودا من النسيج المصاب.

2 - باستخدام قمع بارمان.

3 - بنقع الجذور المصابة فى طبقة رقيقة من الماء لا تغطى الجذور، ثم جمع النيماتودا التى تخرج من الماء - بعد نحو 12 ساعة، ويستمر ذلك لعدة أيام.

4 – برش الجذور المصابة برذاذ من الماء على فترات، واستقبال ماء الرش على منخل مقاس 20، ثم فى إناء واسع. تترسب النيماتودا فى قاع الإناء؛ حيث يمكن تصريف الجزء العلوى واستقبال الراسب السفلى - الذى يحتوى على النيماتودا - فى كأس زجاجية.

ويمكن جمع أعداد كبيرة من بيض ويرقات نيماتودا تعقد الجذور لاستخدامها فى العدوى واختبارات التقييم، وتتباين الطريقة المتبعة لذلك حسبما إذا كانت كتل البيض الظاهرة من الجذور قليلة، أم كثيرة، كما يلى:

1 – عندما تكون كتل البيض الظاهرة من الجذور قليلة:

تغسل الجذور المصابة وتقطع إلى أجزاء صغيرة بطول حوالى 5 مم. يوضع 5 جم من هذه القطع فى خلاط كهربائى منزلى مع 500 مل من الماء، ويشغل الخلاط على سرعة منخفضة لمدة 15 ثانية. يرشح المعلق الناتج خلال منخل ذى ثقوب بقطر ملليمتر واحد، ثم فى منخل آخر ذى ثقوب قطرها يتراوح من 0.01-0.03 مم، يلى ذلك غسيل الجزء المتبقى على المنخل الثانى جيدًا بالماء، ثم ينقل بالماء أيضاً إلى أنبوبة جهاز طرد مركزى، ويضاف إليه نحو سنتيمتر مكعب واحد من مسحوق الكَوْلِين Kaolin، وبعد الخلط الجيد، يُعَرَّض المخلوط للطرد المركزى لمدة 5 دقائق، ثم يفرغ الجزء الرائق العلوى، ويضاف للراسب محلول سكر (سكروز) ذو كثافة نوعية 1.15، ويقلب المخلوط جيدًا، ثم يعرض للطرد المركزى لمدة 4 دقائق. يتجمع البيض فى قمة الأنبوبة؛ حيث يمكن استقباله على منخل دقيق.

2 - عندما تكون كتل البيض الظاهرة من الجذور كثيرة:

تقلب الجذور المصابة فى الماء جيدًا مع الطرق عليها لإسقاط ما بها من كتل بيض فى الماء. وتجمع كتل البيض والشوائب الأخرى على منخل مقاس 60 مش (ذى فتحات 0.42 مم). يلى ذلك ضرب كتل البيض فى خلاط كهربائى مع 500 مل من محلول 1% هيبوكلوريت الصوديوم (محلول تبييض ملابس تجارى مثل الكلوركس بتركيز 20%) لمدة 40 ثانية بغرض فصل البيض من كتل البيض. يفصل البيض بعد ذلك عن الشوائب الكبيرة بإمرار المعلق المحتوى على البيض خلال منخل مقاس 100 مش (ثقوب قطرها 0.149 مم)، ثم خلال منخل آخر مقاس 400 مش (ثقوب قطرها 0.037 مم). ويلى ذلك جمع البيض من على المنخل الأخير بالماء، ثم تعريضه للطرد المركزى بالماء، ثم مع محلول السكروز (454 جم سكروز/100 مل ماء)، ثم الغسيل، وإزالة الشوائب الصغيرة (عن Taylor & Sasser 1978). كذلك فإن غسيل الجذور المتبقية مرتين بالماء يفيد فى فصل مزيد من البيض منها. وبنقل البيض إلى كأس زجاجى فإنه يمكن تحديد أعداد البيض فى كل ملليتر منه.

يكون بيض النيماتودا المستخلص بهذه الطريقة معقم سطحيًّا وخالٍ نسبيًّا من الكائنات الدقيقة الأخرى. ويمكن تخفيف معلق البيض بالماء إلى أن يصل تركيز البيض فيه إلى نحو 1000 بيضة/مل؛ حيث يمكن بعد ذلك إجراء العدوى (الحقن) بأى تركيز يكون مرغوبًا فيه (عن Fassuliotis 1985).

ولمزيد من التفاصيل عن عزل الأنواع المختلفة من النيماتودا من التربة والأنسجة النباتية يراجع Goody (1963)، و Mckenry & Roberts (1985).

عمل مزرعة نقية من نيماتودا تعقد الجذور

نظرًا لأن العشائر الحقلية الطبيعية من نيماتودا تعقد الجذور غالبًا ما تتكون من خليط من الأنواع والسلالات، فإنه يتعين تحضير مزرعة نقية من سلالة نقية من النوع النيماتودى المرغوب فيه لأجل استعمالها فى اختبارات التربية.

ويمكن تحضير مزرعة نقية من نوع نيماتودى واحد، وذلك بوضع كتل مفردة من البيض فى الماء فى زجاجة ساعة، وفحص الـ perineal pattern (طراز الحلقات المتموجة المحيطة بالفتحة التناسلية لأنثى نيماتودا تعقد الجذور) مجهريًّا. وبينما يبدأ البعض المزرعة بكتلة بيض واحدة، فإن آخرين يبدأونها بعدة كتل. وتسمح الطريقة الثانية بتمثيل التباينات الطبيعية التى قد تتواجد فى العشيرة الحقلية.

تنقل كتل البيض التى وقع عليها الاختيار إلى أصيص صغير يحتوى على تربة معقمة وتنمو به بادرة طماطم صغيرة من صنف قابل للإصابة. يفحص المجموع الجذرى لهذا النبات بعد نحو 45-50 يومًا لملاحظة حالة التثألل وتكاثر النيماتودا. وعندما تصبح الكتل البيضية الجديدة المتكونة بلون أسمر ضارب إلى الصفرة فإن الجذور المصابة تقطع وتوزع على أصص أخرى مزروعة هى الأخرى بنباتات طماطم قابلة للإصابة؛ بهدف إكثار مزرعة النيماتودا.

وما أن يتوفر قدر كافٍ من المزرعة النيماتودية لأغراض التربية، فإنه يتعين إخضاعها لاختبار العوائل المفرقة أو المميزة، مع الفحص المجهرى للـ perineal pattern فى عشر عينات على الأقل - لتأكيد تعريف نوع النيماتودا والسلالة المكثرة (عن Fussuliotis 1985).

نمو الكائنات الدقيقة فى المزارع

يتخذ منحنى النمو growth curve مع الزمن فى مزارع الكائنات الدقيقة – خاصة الوحيدة الخلية كالبكتيريا - الوضع المبين فى شكل (2-1). فبعد فترة قصيرة من التوقف عن الانقسام والنمو lag-phase (أ) .. تكون الزيادة فى أعداد الخلايا - مع الوقت - لوغاريتمية Logarithmic (أو أسية exponential، ب)، ويلى ذلك فترة (جـ) تكون فيها العلاقة خطية Linear بين أعداد الخلايا والوقت، ثم تتبعها فترة (د) ينخفض فيها معدل الزيادة. وتعرف المرحلة الأخيرة أحيانًا باسم الشيخوخة Senescence، وهى تحدث نتيجة لاستهلاك الغذاء، أو بسبب تراكم مركبات سامة للنمو. ويعرف المنحنى (1) فى شكل (2-1) بالاسم Sigmoid (عل شكل حرف S)، وهو شكل النمو الطبيعى الغالب فى جميع الكائنات الحية وأعضائها المفردة.

وجدير بالذكر أنه إذا أُخذت عدة خلايا من مزرعة فى مرحلة شيخوخة، ونقلت إلى مزرعة جديدة .. فإنها تبدأ مرحلة جديدة من النمو السيجمويد. أما المنحنى (2) فى شكل (2-1) فيوضح العلاقة بين الزيادة فى أعداد الخلايا فى وحدة الزمن، مع تقدم المزرعة فى العمر.

ويمكن التعبير عن الزيادة فى أعداد الخلايا خلال مرحلة النمو اللوغاريتمى بالمعادلة التالية:

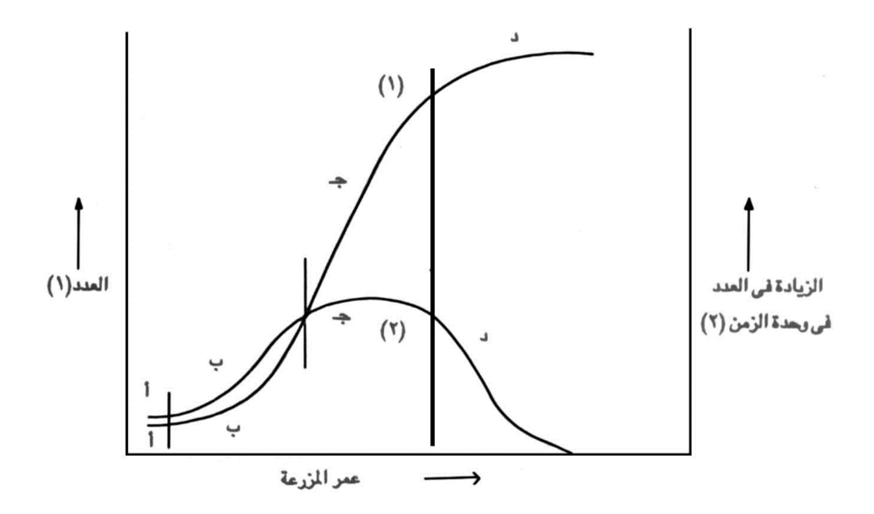
$$\log nt = \log no + Kt$$

حيث إن:

no = عدد الخلايا فى البداية.

nt = عدد الخلايا بعد زمن t.

K = ثابت (عن Birkett 1979).



شكل (2-1): منحنى نمو مزارع الكائنات الدقيقة مع الزمن.

تحفيز تجرثم الفطريات فى المزارع

يحتاج تجرثم المزارع الفطرية إلى ظروف خاصة غير تلك التى يحتاجها النمو الخضرى لذات الأنواع الفطرية، ومثال ذلك ما يلى:

1 – يحتاج التجرثم إلى مجال حرارى أضيق مما يكون مناسبًا للنمو الخضرى.

2 – قد يؤدى التعريض للضوء إلى تحفيز التكاثر الجنسى فى معظم الفطريات، وعادة ما يفيد التعرض للأشعة فوق البنفسجية – أو تلك القريبة منها التى تكون موجاتها أقل من 340 نانومتر طولاً – فى حث التجرثم، إلا أن زيادة فترة التعرض لتلك الأشعة قد يعطى نتائج عكسية. ويستخدم لتحقيق ذلك إما لمبات الأشعة فوق البنفسجية أو القريبة منها، أو مجرد التعريض لضوء الشمس.

3 – التهوية:

قد تؤدى زيادة تركيز غاز ثانى أكسيد الكربون أو الأمونيا فى المزارع إلى تثبيط النمو والتجرثم فى بعض الأنواع الفطرية. وعادة ما تسمح مزارع أطباق بترى والأنابيب ذات السدادات القطنية بالتبادل الغازى بالقدر الكافى، بعكس أوعية البولى بروبلين.

4 – عوامل أخرى:

من بين العوامل الأخرى التى تؤثر فى نمو وتجرثم المزارع: المواد المغذية، خاصة الكربونية والنيتروجينية، والرقم الإيدروجينى، ونوع البيئة، وتركيز الأكسجين وثانى أكسيد الكربون فى هواء البيئة (عن Dhingra & Sinclair 1985).

طرق تقدير تركيز المعلق البكتيرى المستخدم فى العدوى الصناعية

تُستخدم لأجل تقدير المعلقات البكتيرية المستعملة فى العدوى الصناعية للنباتات طريقتان رئيسيتان، هما:

أولاً: طرق التقدير التى تعتمد على كثافة المعلق (Turbidimetric Measurements)

تتميز هذه الطريقة بسرعتها وبساطتها، ولكن يعاب عليها أنها تعطى تقديرًا لتركيز الخلايا البكتيرية الحية والميتة على حد سواء، مع ضرورة معايرة الجهاز المستخدم عند قياس تركيز كل نوع من الأنواع البكتيرية. تعرف القياسات التى تسجل لتركيز المعلق البكتيرى باسم Photoelectric Measurements، ويستخدم فى قياسها جهاز الـ Densiometer، أو الـ Colorimeter، أو Spectrophotometer.

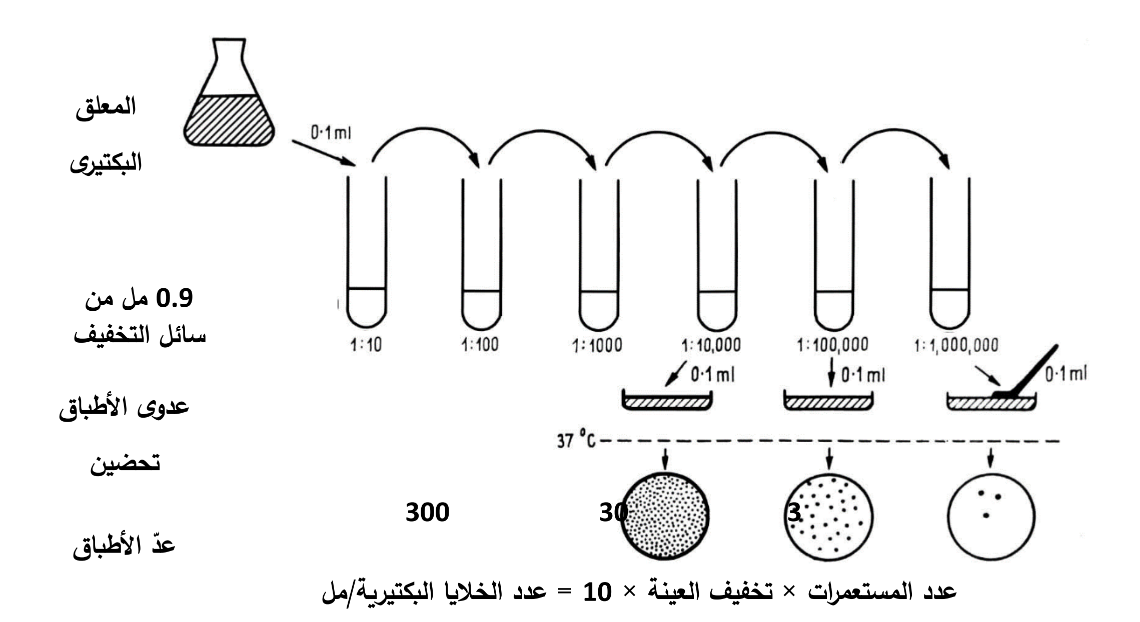
وتعتمد فكرة قياس التركيز فى هذه الأجهزة على وضع أنبوبة زجاجية تحتوى على المعلق البكتيرى فى طريق شعاع من الضوء، ثم قياس كمية الضوء التى تنفذ خلاله وتصل إلى خلية ضوئية، حيث يمكن الحصول على تقدير لعدد الخلايا البكتيرية فى كل ملليلتر من المعلق من العلاقة الخطية العكسية التى تربط بين عدد الخلايا، وشدة الضوء الذى ينفذ من المعلق، والتى يتم التوصل إليها من دراسات أولية تجرى لكل نوع بكتيرى على حدة. ويراعى دائمًا ضبط الجهاز على الصفر بوضع أنبوبة مملوءة بالماء أو بالبيئة السائلة قبل وضع الأنبوبة المحتوية على المعلق البكتيرى فى الماء، أو فى البيئة السائلة، على التوالى.

ثانيًا: طريقة العد فى الأطباق Plate Count Techuique

يجرى تخفيف تركيز المعلق البكتيرى بسلسلة من التخفيفات كما هو مبين فى شكل (2-2). تؤخذ عينات معلومة الحجم من المعلق البكتيرى من التخفيفات الثلاثة الأخيرة، وتفرد على بيئة مناسبة فى طبق بترى، وتترك لتنمو فيها البكتيريا، حيث يمكن – من عدد المستعمرات البكتيرية النامية – التوصل إلى تركيز الخلايا البكتيرية فى المعلق الأصلى.

يراعى عند اتباع هذه الطريقة استخدام ماصات مختلفة عند إجراء التخفيفات المتتابعة، وعند نقل جزء من المعلقات المخففة إلى أطباق بترى، مع نشر المعلق على البيئة باستخدام قضيب زجاجى على شكل حرف L. يعقم القضيب الزجاجى أولاً بغمسه فى الكحول، ثم إشعال الكحول العالق به. ويمكن استخدام نفس القضيب الزجاجى إذا بدأ العمل بأكبر التخفيفات (أقل تركيز للخلايا البكتيرية)، ثم تقدم نحو التخفيفات الأقل منها (Kiraly وآخرون 1974).

يعاب على هذه الطريقة أنها تحتاج إلى يومين على الأقل لتنفيذها، مع ما يتطلبه ذلك من جهد، بالإضافة إلى أنها تعطى - بعد يومين من العدوى - تقديرًا لتركيز المعلق البكتيرى الذى استخدم بالفعل، وبذا .. لا يمكن استخدامها فى التحكم فى تركيز المعلق البكتيرى الذى يرغب فى استخدامه.

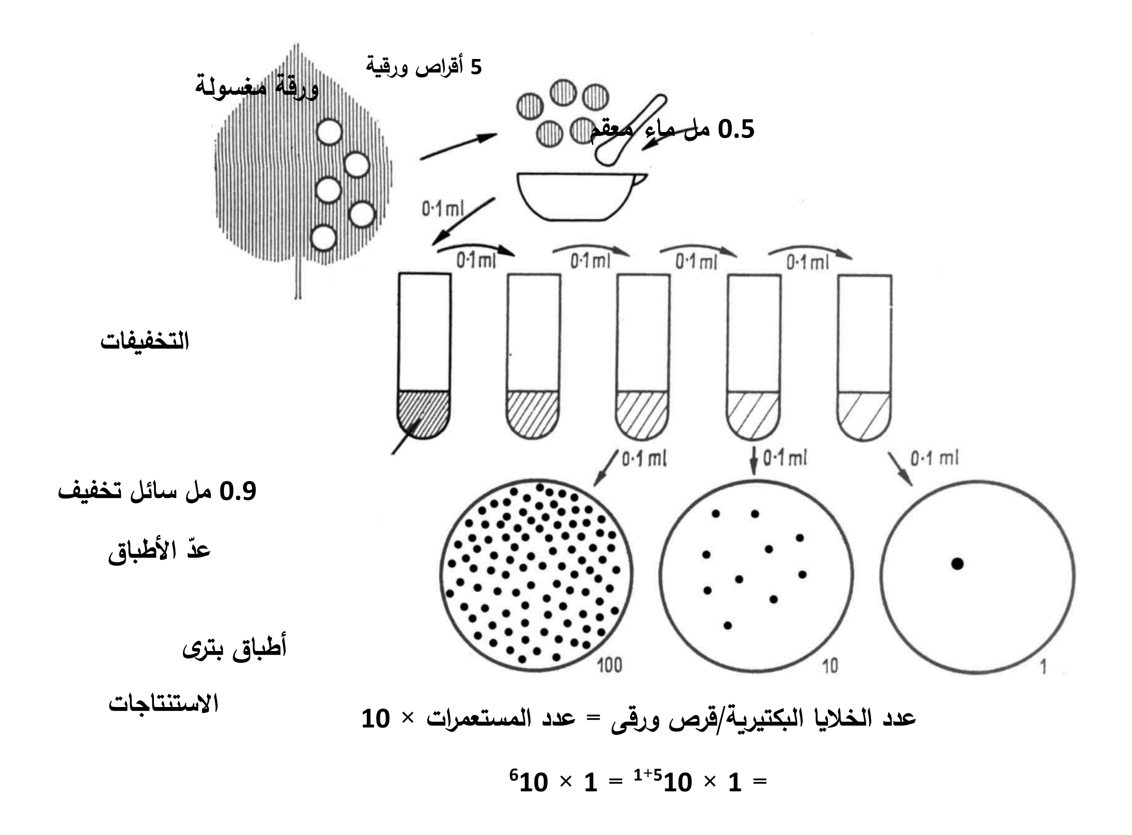


شكل (2-2): طريقة عّد المستعمرات البكتيرية فى الأطباق لتقدير تركيز المعلقات البكتيرية.

تقدير أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة

يلزم أحيانًا تتبع أعداد البكتيريا فى الأنسجة النباتية المصابة، ويجرى ذلك بطريقة العد فى الأطباق Plate Count Technique التى سبقت الإشارة إليها. ويوضح شكل (2-3) كيفية تحضير سلسلة من التخفيفات للبكتيريا التى يحصل عليها من النسيج النباتى المصاب. يراعى غسيل العضو النباتى المستعمل أولاً وتطهيره سطحيًّا، ثم تؤخذ منه أقراص صغيرة باستعمال ثاقبة فلين. تهرس الأقراص فى هاون صينى، مع استعمال 0.1 مل من الماء لكل قرص من الأنسجة الورقية، ويستمر الاختبار كما فى طريقة العد فى الأطباق.

سحق عينات صغيرة من الورقة



شكل (2-3): طريقة عّد المستعمرات البكتيرية فى الأطباق لتقدير تركيز المعلقات البكتيرية.

طرق حفظ مزارع مسببات الأمراض

تحتاج دراسات التربية لمقاومة الأمراض إلى الإلمام بوسائل حفظ مزارع الفطريات والبكتيريا لفترات طويلة؛ لأن ذلك يفيد فى الأمور التالية:

1 - استخدام نفس السلالة فى الدراسات الوراثية فى أى وقت يكون الباحث فى حاجة إليها.

2 - تجنب تكرار زراعة المسبب المرضى؛ وبذا .. تقل فرص تلوثه، وتغير تركيبه الوراثى بالطفور.

مزارع الفطريات والبكتيريا

من أهم طرق إدامة وحفظ المزارع الفطرية والبكتيرية ما يلى:

1 - النقل الدورى Periodic Transfer:

يُسمح بنمو المزارع الفطرية أو البكتيرية فى بيئة آجار بأنابيب اختبار، ثم تخزن بعد ذلك إما فى الثلاجة على 5°م - وهو ما يحدث غالبًا - وإما فى درجة حرارة الغرفة بالنسبة لبعض المسببات المرضية.

وتتخذ أثناء فترة التخزين الاحتياطيات التى تمنع جفاف البيئات، أو تلوثها، فتغطى أنابيب البيئات جيدًا بورق الألومنيوم، أو بالورق المشمع، أو بالبارافين، ولكن يجب عدم إحكام الغطاء فى حالات المزارع التى تكون نشطة فى نموها. وتعقم السدادات القطنية جيدًا قبل تغطيتها إما بتعريضها للهب (مع سرعة إطفائها)، وإما ببلها ببضع نقاط من 1% كلوريد الزئبقيك فى مخلوط من كحول الإيثايل النقى والجليسرول بنسبة 5:95. يمنع هذا الإجراء تلوث البيئات بالفطريات، وبالأكاروس الذى يحمل معه عديدًا من الكائنات الدقيقة.

وتختلف الفترة التى تمر قبل تجديد زراعة المزارع، ونقلها إلى بيئات جديدة من مرة كل 7-15 يومًا إلى كل 6-12 شهرًا تبعًا لطبيعة الكائن الدقيق المستخدم. وتتطلب هذه الطريقة جهدًا كبيراً، ولكنها تكون هى الطريقة المفضلة فى غياب أية معلومات عن مدى صلاحية الطرق الأخرى لتخزين وإدامة الكائنات الدقيقة التى يستعملها الباحث.

إن إعادة زراعة المزارع فى بيئات جديدة بصورة دورية **periodic transfer** تتطلب جهدًا دقيقًا، فضلاً عن أن كثيراً من البكتيريا والفطريات تصبح متأقلمة على النمو الرمى **saprophytic growth** وتفقد قدرتها على إحداث الإصابة أو قدرتها على التجرثم، وقد تسبب التغيرات المورفولوجية التى تظهر عليها مشاكل فى تعريفها. وعلى الرغم من تلك العيوب، فإنها قد تكون الطريقة الوحيدة لحفظ المزارع أحيانًا.

تتوقف المدة قبل تجديد النمو على درجة حرارة التخزين والرطوبة النسبية؛ ذلك لأن الظروف التى تحفز سرعة فقد البيئات لرطوبتها تتطلب تجديد المزارع على فترات أقصر. هذا وتحتفظ المزارع التى توجد فى أوعية غير منفذة للرطوبة والتى تسمح بتبادل الغازات (مثل مزارع الأنابيب الزجاجية المغطاة بالسدادات القطنية) .. تحتفظ بحيويتها لمدة 6-8 شهور فى الثلاجة على حرارة 5-8°م قبل أن يحتاج الأمر إلى إعادة تجديدها.

يتطلب حفظ الفطريات بالتجديد الدورى للمزارع، ما يلى:

أ - زراعتها - بالتبادل - على بيئات غنية وأخرى فقيرة فى المحتوى الكربوهيدراتى، يكون رقمها الأيدروجينى عند نقطة التعادل.

ب - استعمال بيئات تسمح بأقل قدر من النمو الميسيليومى مع أكبر قدر من التجرثم.

جـ - تجديد النمو من الجراثيم الفطرية فقط وقصر التجديد من الغزل الفطرى على الفطريات التى لا تتجرثم فقط.

د - إجراء التجديد من أحدث أجزاء المزرعة نموًّا.

هـ - فى حالة غلق البيئات بأغطية ذات قلاووظ لا يجب إحكام غلقها.

و - حفظ الفطريات غير الحساسة للبرودة على حرارة 4-10°م بعد اكتمال تغطية النمو الفطرى لسطح البيئة.

2 - التخزين تحت الزيت:

تخزن بهذه الطريقة المزارع القوية النشطة التى تكون فى بيئات الآجار فى أنابيب الاختبار، حيث تغطى بزيت معدنى معقم مثل زيت البارافين الذى يمنع فقدان الماء من البيئة فلا تجف، ويمنع وصول الأكسجين إلى المزرعة فيحدّ من نشاطها الأيضى. تخزن أنابيب المزارع بعد ذلك عمودية على 5°م غالبًا.

ويتطلب اتباع هذه الطريقة فى تخزين المزارع مراعاة ما يلى:

أ - أن يكون الزيت المعدنى ذا درجة نقاء عالية تماثل تلك المستخدمة فى الأغراض الطبية، وكثافة تتراوح بين 0.86، و 0.89.

ب - يجب تعقيم الزيت فى الأوتوكليف على 121°م لمدة ساعتين، ثم تجفيفه فى الفرن على 170°م لمدة ساعة إلى ساعتين.

جـ - أن تكون تغطية البيئة بالزيت تامة؛ حتى لا تشكل الأجزاء غير المغطاة منفذًا لتبخر الماء منها.

هذا .. وتعيش معظم المزارع الفطرية والبكتيرية المحفوظة بهذه الطريقة لفترات أطول بكثير مما فى الطريقة الأولى، حيث لا يتطلب الأمر إعادة زراعتها إلا كل عدة سنوات، وتتراوح المدة بين سنتين وعشر سنوات حسب نوع الفطر.

3 - التخزين فى الماء:

تخزن بعض الأنواع البكتيرية مثل **Pseudomonas solanacearum** فى الماء المقطر لفترات طويلة جدًّا تصل إلى تسع سنوات. وتتبع هذه الطريقة فى تخزين عديد من الأنواع البكتيرية حيث لا يتطلب الأمر أكثر من نقل جزء يسير من النمو البكتيرى إلى أنابيب الماء المعقم، ثم تخزن الأنابيب فى درجة حرارة الغرفة، أو على 5ْم. كذلك تنجح هذه الطريقة مع بعض الفطريات، حيث يُنْقَل إلى أنابيب الماء جزء متجرثم من المزرعة الفطرية. وتستعمل تلك الأنابيب فى عمل مزارع جديدة وتجديد النمو منها فى الوقت المناسب.

4 - التخزين فى التربة أو الرمل:

تخزن المزارع الفطرية فى التربة، أو الرمل، أو الفيرميكيوليت المعقم بإضافة نحو ملليتر واحد من معلق لجراثيم الفطر الكونيدية إلى 5 جم من الوسط المستخدم فى التخزين (التربة أو الرمل ... إلخ) فى أنبوبة اختبار، مع مراعاة تعقيم الوسط - وهو فى أنبوبة الاختبار - قبل إضافة المعلق الفطرى إليه. يلى ذلك التجفيف على درجة حرارة الغرفة، ثم التخزين فى الثلاجة. تفيد هذه الطريقة فى تخزين الفطريات التى تفقد ضراوتها عند تكرار زراعتها فى بيئات مغذية؛ مثل فطر الفيوزاريم **Fusarium**، لأنها لا تحفز حدوث أية تغيرات وراثية، ويمكن بواسطتها تخزين المزارع الفطرية بنجاح لمدة 2-6 سنوات.

5 - التجفيف:

يفيد التجفيف السريع فى حفظ مزارع عديد من الفطريات لفترات طويلة يمكن أن تزيد على 15 عامًا. ويشترط لنجاح التخزين بهذه الطريقة ما يلى:

أ - أن يكون التجفيف سريعًا كأن يكون تحت تفريغ، أو فوق إحدى المواد المجففة.

ب - أن تحفظ المزرعة وهى مخلوطة مع مواد حامية لها مثل الحليب أو سيرم الدم.

جـ - التخزين فى الثلاجة بعد اكتمال التجفيف.

ويستخدم - لهذا الغرض - قطرة من المعلق الفطرى، تخلط مع قطرة من السيرم فى أنبوبة اختبار صغيرة توضع فى أنبوبة أكبر هى التى توضع بها المادة المجففة، مع إحكام إغلاق الأنبوبة الكبيرة.

6 - التخزين فى السيليكا جل:

تستخدم السيليكا جل فى حفظ المزارع لفترات طويلة حينما لا يتيسر التجفيد أو النيتروجين السائل. وتكون المزراع الفطرية المتجرثمة المحفوظة فى السيليكا جل والتى تتم حمايتها باستعمال اللبن المنزوع الدسم .. تكون قادرة على الاحتفاظ بحيويتها لمدة 4-5 سنوات.

7 - التجفيف مع التجميد freeze-drying أو التجفيد lyophilization:

يفيد التجفيد فى حفظ مزارع معظم الأنواع البكتيرية والخمائر، وكثير من الأنواع الفطرية.

إن الأساس ف عملية التجفيد هو خفض المحتوى المائى للجراثيم إلى 2%-3% بالتجفيف تحت تفريغ، مع التخزين فى غياب الأكسجين وبخار الماء. يجرى التجفيف فى الحالة المتجمدة، ويعد التجميد قبل التجفيف ضروريًّا لمنع تراكم تركيزات عالية ضارة من المواد الصلبة الذائبة فى البيئة الحاملة للمزرعة أو فى الخلايا ذاتها.

ويجرى التجفيد بوضع كمية صغيرة من المعلق الخلوى للمزرعة الفطرية أو البكتيرية فى أنبوبة زجاجية خاصة وتجميدها بسرعة، ويلى ذلك تجفيف العينة بتعريضها لتفريغ شديد حيث يتسامى الماء المجمد ويتبخر فى الحال، ثم تغلق الأنبوبة بإحكام وهى لاتزال تحت التفريغ الشديد. وتخزن الأنابيب بعد ذلك فى الثلاجة على 3-5 ْم.

هذا .. ويتم التبريد الأولى السريع بوضع الأنابيب فى الأسيتون أو الإيثانول مع الثلج الجاف، وتعلق المزارع فى محول 20% جلوكوزًا أو سكروزًا. وقد يحتاج الأمر إلى عملية التبريد الأولى؛ لأن التفريغ الشديد يحدث هذا التأثير.

8 - التبريد الفائق:

تحفظ مزارع الفطريات المسببة للأمراض فى الحرارة الشديدة الانخفاض cryopreservation إما فى النيتروجين السائل على -196 ْم، وإما فى الحالة البخارية للنيتروجين السائل على -150 ْم. وتتحسن قدرة معظم الفطريات على تحمل التخزين الفائق البرودة باستعمال المواد الحامية لذلك cryprotectants، مثل الجليسرول glycerol، والـ dimethyl sulfoxide، وبالتحكم فى سرعة التجميد والتفكك.

ونظرًا لأن النيتروجين السائل الذى تحتاجه عملية التبريد - والذى يلزم تجديده باستمرار - قد لا يكون متوفرًا فى كل المختبرات، ونظرًا - كذلك - لتوفر المجمدات التى يمكنها التجميد على -95 ْم، فقد اتجه الباحثون إلى تخزين مزارع الفطريات فى تلك المجمدات، حيث تتميز بانخفاض تكلفتها مقارنة بتكلفة النيتروجين السائل، وبكونها أكثر تيسرًا من كل من النيتروجين السائل وأجهزة التجفيد.

ولقد أمكن بهذه الطريقة - سواء باستعمال المواد الحامية أو بدون استعمالها - تخزين عديد من المزارع الفطرية لفترات طويلة دون أن تتأثر خصائصها (Legard & Chandler 2000).

ونظريًّا .. فإن أى مزرعة فطرية أو بكتيرية تتحمل عمليات التبريد والتجميد والتفكك يمكن أن تحتفظ بحيوتها فى النيتروجين السائل (على -196°م) إلى ما لا نهاية؛ ذلك لأن النشاط الحيوى يتوقف كلية – تقريبًا – عند تلك الدرجة (عن Dhingra & Sinclair 1985).

تخزين الفيروسات

يلزم دائمًا الاحتفاظ بعينات من عزلات الفيروسات التى يستعملها المربى فى دراساته، ويتحقق ذلك بإحدى الوسائل التالية:

1 - العدوى الدائمة على فترات بالفيروسات - التى يُرغب فى إدامتها - لنباتات من عوائل مناسبة يحتفظ بها فى صوبة زجاجية، إلاّ أن هذه الطريقة تتطلب مساحة دائمة فى الصوبة وتكرار العدوى لنباتات جديدة بصورة دائمة، فضلاً عما قد تتعرض له النباتات المستعملة من تلوث بفيروسات أخرى. كذلك فإن تكرار العدوى بعزلة فيروسية معينة من نبات لآخر قد يؤدى إلى فقدها لخصائصها المميزة.

2 - تجفيف أوراق مصابة جهازيًّا بالفيرس هوائيًّا وحفظها فى أكياس ورقية مناسبة، وهى طريقة تناسب الـ tobamoviruses.

يتم تجفيف الأوراق النباتية المصابة بالفيرس - بسرعة - وتخزن فوق كلوريد الكالسيوم على صفر-4°م. يستخدم لذلك كلوريد كالسيوم محبب بقطر 5-15 مم، يوضع فى قاع وعاء زجاجى، ثم يغطى بطبقة رقيقة من القطن أو المناشف الورقية (كلينكس)، ويوضع عليها من 5-10 جم من عينة الأوراق المصابة بالفيرس بعد تجزيئها إلى قطع صغيرة باستخدام شفرة حلاقة نظيفة. ويلى ذلك إحكام إغلاق الوعاء الزجاجى بالبرافين. ولأجل تجفيف عينة الأوراق المصابة تمامًا .. يلزم فتح الوعاء الزجاجى عدة مرات، واستبدال بللورات كلوريد الكالسيوم الموجودة به بأخرى جديدة.

3 - تقطيع أوراق كاملة مصابة إلى أجزاء صغيرة (وهى خضراء)، وتخزينها فى أكياس من البوليثيلين محكمة الغلق، أو فى زجاجات مقفلة على -20ْم. يمكن حفظ كثير من الفيروسات لعدة شهور بهذه الطريقة، لكن لا يجب تكرار تفكيك العينات المحفوظة ثم إعادة تجميدها؛ ولذا .. يتعين أن يكون الحفظ فى صورة عينات صغيرة تكفى للاستعمال فى كل مرة نحتاج فيها إلى الفيرس.

4 - استخلاص العصير الخلوى لأوراق مصابة، ثم تعريضه للطرد المركزى أو تنقيته جزئيًّا للتخلص من الشوائب، ثم حفظه على -20ْم، أو على صفر إلى -1ْم بالنسبة للفيروسات الأقل قدرة على الثبات. وبينما يحتوى العصير الخلوى غير المنقى على مثبطات تقلل من قدرة الفيرس على إحداث الإصابة، فإن العصير الخلوى المنقى جزئيًّا لا يحتمل التخزين لفترة طويلة. وكما فى حالة الأوراق المحفوظة بالتجميد، فإنه يتعين تجنب تكرار التجميد والتفكيك.

5 - يناسب الفيروسات غير الثابتة حفظها بطريقة التجفيد **lyophilization** (عن **Hill 1984**).

إقامة الدليل على التطفل

يلزم لإقامة الدليل على أن كائنًا مرضيًّا معينًا هو المسئول عن الإصابة بمرض ما أن ينطبق على هذه الحالة أربعة شروط أو مبادئ تعرف باسم شروط أو مسلمات كوخ Koch's Postulates، وهى كما يلى:

1 – ارتباط جملة أعراض المرض دائمًا بوجود الكائن الممرض.

2 – ضرورة عزل الكائن الدقيق الممرض، وزراعته مستقلاً عن النبات، وتعريف خصائصه.

3 – ظهور نفس أعراض المرض عند عدوى نباتات سليمة بهذا الكائن الدقيق.

4 – عزل الكائن الدقيق مرة أخرى من النبات المعدى، وإثبات أنه مطابق للكائن الذى استخدم فى العدوى.

وتستثنى القاعدة الثانية (الخاصة بضرورة عزل وزراعة الكائن الدقيق) - بالنسبة للمسببات المرضية الإجبارية التطفل - من شرط إقامة الدليل على التطفل، حيث يكتفى إما بدراسة الكائن الدقيق ميكروسكوبيًّا واستخدام جراثيمه - التى تجمع من النباتات المصابة - فى العدوى مباشرة، كما فى فطريات البياض الزغبى والبياض الدقيقى، وإما بتنقيته كما فى حالة الفيروسات، وإما بعزلة واستخدامه فى العدوى دونما حاجة إلى زراعته كما فى حالة النيماتودا.

ولتحقيق الجزء الأخير من الشرط الثانى من قواعد كوخ، وهو الخاص بدراسة خصائص المسبب المرضى بعد عزله بعيدًا عن النبات .. يلزم أن يكون المربى على دراية ببعض الاختبارات التى تجرى فى هذا الشأن، والتى يمكن الرجوع إليها فى المراجع المتخصصة مثل:

المرجع	الموضوع
(1973) Noordam	طرق التعرف على الفيروسات المسببة للأمراض النباتية
Kiraly وآخرون (1974)	مرجع رئيسى لأهم الاختبارات التى تجرى للتعرف على خصائص المسببات المرضية، خاصة البكتيرية والفيروسية
(1978) Taylor & Sasser	شرح مفصل لطرق التعرف على أهم أنواع نيماتودا تعقد الجذور وسلالاتها
(1980) Schaad	اختبارات التعرف على البكتيريا المسببة للأمراض النباتية
(1987) Lelliott & Stead	اختبار التعرف على الأمراض البكتيرية ومسبباتها

الطرق المستخدمة فى تحديد هوية المسببات المرضية

إن التعرف على المسببات المرضية (وهو ما يعرف باسم diagnostics) لا يُفيد فقط فى تحديد الأمراض التى تصيب النباتات، ولكنه يفيد - كذلك - فى تحديد سلالات وعزلات المسبب المرضى؛ الأمر الذى يكون له أهمية خاصة فى دراسات التربية لمقاومة الأمراض، كما أن الحصر السنوى لسلالات الصدأ السائدة فى منطقة ما يستعمل فى تحديد جينات المقاومة التى يتعين الاستعانة بها فى القمح لتقليل أخطار الإصابات الوبائية بالمرض، كما هو الحال فى كل من أستراليا والولايات المتحدة.

ونعرض - فيما يلى - لأهم الطرق المستخدمة فى تحديد هوية المسببات المرضية.

الطرق الكلاسيكية

إن من بين الطرق الكلاسيكية ما يلى:

1 - الفحص المظهرى للأعراض المرضية.

2 - الفحص المجهرى للتعرف (فى حالة الفطريات على سبيل المثال) على شكل الغزل الفطرى، والتراكيب الثمرية (الجرثومية)، والجراثيم.

3 - استخدام البيئات الانتخابية والظروف البيئية الخاصة التى تُحضَّن عليها مزارع المسببات المرضية لأجل دفعها إلى إنتاج الجراثيم، وهى التى تفيد فى التعرف على هوية الفطريات المسببة للأمراض.

4 – وفى حالة المسببات المرضية البكتيرية، فإن يفيد – كذلك – الفحص المجهرى، والاختبارات الكيميائية الحيوية، واستعمال البيئات الانتخابية.

5 – يمكن التعرف على بعض الأمراض الفيروسية وتلك التى تسببها الفيتوبلازما phytoplasma من الأعراض المظهرية، ولكن كثيراً ما يلزم الفحص بالمجهر الإليكترونى، فضلاً عن الحاجة إلى اختبارات نقل المسبب المرضى إلى أنواع نباتية متنوعة للتعرف على مدى عوائله.

6 – كذلك فإن الحساسية للتتراسيكلين يمكن الاعتماد عليها فى التعرف على الاسبيروبلازما spiroplasmas والفيتوبلازما وتمييزهما عن الفيروسيات.

ويقدم Dhingra & Sinclair (1985) عرضًا وافيًا للطرق الهستولوجية المستخدمة فى دراسة الإصابات المرضية الفطرية والبكتيرية.

استعمال الأجسام المضادة

تعتمد اختبارات الأجسام المضادة antibodies على حقن الحيوانات بالأنتيجينات الخاصة بالمسببات المرضية، لأجل إنتاج أجسام مضادة لها، هى التى تستعمل – بعد تنقيتها – فى اختبارات سيرولوجية للتعرف على تلك المسببات.

ومن أهم أنواع الأجسام المضادة المستعملة، ما يلى:

1 – الـ polyclonal antibodies:

يستخدم هذا الاختبار – خاصة – فى حالة الفيروسات، وهى التى يتعين تنقيتها جيدًا حتى يكون هناك أنتجين واحد هو الخاص بالبروتين الموجود فى الغلاف البروتينى للفيرس؛ لأن الحيوانات المستخدمة فى إنتاج الأجسام المضادة سوف تنتج – تلقائيًّا – أجسام مضادة ضد أى بروتين يحقن فيها.

ويُعاب على هذا الاختبار أنه - حتى لو تمت تنقية المسبب المرضى الفطرى أو البكتيرى إلى أقصى درجة ممكنة - فإن الحيوان المحقون به سوف ينتج أجسامًا مضادة لجميع أنواع الببتيدات التى توجد فى ذلك المسبب المرضى، وهى التى قد تتواجد بصورة طبيعية - كذلك - فى أنواع فطرية أو بكتيرية أخرى. ويمكن التغلب على تلك المشكلة باستخدام ببتيدات نقية، أو بإنتاج monoclonal antibodies.

2 – الـ monoclonal antibodies:

تتميز الـ monoclonal antibodies بأنها تكون خاصة بأجسام مضادة معينة، ولقد أمكن إنتاجها لعدد من الفيروسات والفيتوبلازما والأنواع البكتيرية والفطرية، ولكن إنتاجها مكلف.

ولمزيد من التفاصيل عن تلك الطرق وغيرها من الطرق الأحدث والأكثر تقدمًا .. يراجع Dickinson (2003).

تحديد هوية الفيروسات المسببة للأمراض النباتية

يعتمد تقسيم الفيروسات على عشرات الخصائص الفيروسية التى تتعلق بالمظهر العام للفيروسات وخصائصها الفيزيائية، وخصائص الأحماض النووية والبروتينات والدهون والمواد الكربوهيدراتية (إن وجدت أيًّا من الدهون والمواد الكربوهيدراتية بالفيرس)، وتنظيم الجينوم وانقسامه، والخصائص الأنتيجينية والبيولوجية. وكما فى الكائنات الحية تُقَسَّم الفيروسات إلى رتب، وعائلات، وأجناس، وأنواع تشترك كل منها فى خصائص معينة، ويعطى Hull (2002) بيانًا مفصلاً بالخصائص التى يُبنى عليها تقسيم الفيروسيات، وبالعائلات الفيروسية والأجناس التى تتبع كل منها وخصائصها، والفيرس الممثل لكل جنس منها.

ويلزم عند تحديد هوية الفيروسات المسببة للأمراض النباتية التفريق بين السلالات المختلفة لنفس الفيرس، وبين الفيروسات المختلفة التى تنتمى لنفس مجموعة الفيروسات، والفيروسات المختلفة كلية عن بعضها البعض، كما يلى:

أولاً: تختلف الفيروسات غير القريبة Unrelated عن بعضها فى صفة أو أكثر من الصفات الثابتة وراثيًّا، مثل:

1 - نوع الحامض النووى وخصائصه.

2 - حجم جزيئاته، وشكلها، ومدى تساوقها.

3 - حجم وعدد البولى ببتيدات فى جزىء الفيرس.

4 - قدرة الجزيئات على التفاعل مع مضادات السيرم لجزيئات الفيروسات الأخرى.

5 - نوع الأعراض المرضية التى تحدثها فى عوائلها.

6 - المجموعة التى تنتمى إليها الكائنات الناقلة له.

7 - طبيعة العلاقة بين الفيرس والكائن أو الكائنات الناقلة له.

ثانيًا: تشترك الفيروسات التى تنتمى إلى نفس المجموعة الفيروسية فى خاصيةأو أكثر من الخصائص السابقة، ولكنها قد تتميز بما يلى:

1 - الاختلاف فى بنية الغلاف البروتينى من الأحماض الأمينية بالقدر الذى يجعل لكل فيرس خصائص سيرولوجية، وإليكتروفوريتية **electrophoretic** (الحركة فى المجال الكهربائى) تميزه عن غيره من الفيروسات.

2 - يكون لها أنواع مختلفة من الكائنات الناقلة لها، ولكنها تكون قريبة من بعضها.

3 - تختلف فى مدى عوائلها وشدة الأعراض التى تحدث بها، ولكنها تتشابه فى نوع الأعراض المرضية التى تحدثها.

ثالثاً: تتشابه سلالات الفيرس الواحد فى معظم الخصائص، ولكنها غالبًا:

1 - تختلف قليلاً فى بنية الغلاف البروتينى من الأحماض الأمينية، ولذا .. فإنها تختلف قليلاً فى خصائصها السيرولوجية والإليكتروفوريتية.

2 - تختلف فى نوع **species** الكائن الناقل لها، أو فى مدى سهولة انتقالها به.

3 - تحدث أعراضًا تختلف فى شدتها (**Gibbs & Harrison 1976**).

يستدل على هوية الفيروسات النباتية بعديد من الشواهد والاختبارات. ويستفاد من بعض هذه الاختبارات فى دراسات التربية لمقاومة هذه الفيروسات، ولذا .. فإننا نذكر - فيما يلى - بعضًا من هذه الطرق؛ لتكون دليلاً للمربى فى هذا المجال.

أولاً: أعراض الإصابات الفيروسية

برغم أنه لا يمكن الاعتماد كلية على أعراض الإصابة فى تحديد هوية الفيروسات المسببة للأمراض النباتية، إلا أنها تعد مرشدًا هامًّا فى هذا الشأن يمكن أن يوجه الباحث نحو الاتجاه الصحيح من حيث كون الإصابة فيروسية، أم غير فيروسية، ومن حيث حصرها فى مجموعة فيروسات معينة تتشابه من حيث الأعراض التى تُحدثها للنباتات.

ويجب أن يراعى أن نفس الأعراض المشاهدة يمكن أن تحدثها الإصابة بفيروسات مختلفة، كما أن الفيرس الواحد يمكن أن يحدث مدى من الأعراض، ويتوقف ذلك على التركيب الوراثى للعائل والظروف البيئية. هذا .. ولا يستدل - بالضرورة - من اختفاء الأعراض على عدم وجود إصابات فيروسية، فقد تكون الإصابة كامنة أو مستترة latent. ونتناول - فيما يلى - أعراض الإصابات الفيروسية بشئ من التفصيل.

1 - المظهر العام للإصابة

يتباين المظهر العام للنباتات المصابة بالفيروسات، فقد تأخذ الأعراض مظهر تغيرات فى اللون، أو تقزم Dwarfing، أو توقف عن النمو Stunting، أو تورد Rosetting (نتيجة لقصر السلاميات؛ مما يجعل الأوراق متقاربة من بعضها، كما تتقارب بتلات الوردة)، أو شكل المكنسة Witches' Broom (نتيجة لزيادة التبرعم، والتفرع مع التقزم وقصر السلاميات)، أو التدهور Decline (نتيجة لفقد قوة النمو) الذى قد يشمل النبات كله، أو أجزاء منه.

2 - الانحرافات فى اللون

أ - الأوراق:

(1) تغيرات اللون المتجانسة التوزيع:

قد تكون تغيرات اللون متجانسة التوزيع على كل سطح الورقة، ويتضمن ذلك: اللون الأخضر الباهت chlorosis، واللون الأبيض bleaching، والاصفرار yellowing، والاحمرار reddening؛ بتكوين صبغة الأنثوسيانين، (وهو ما قد يختلط بأعراض نقص العناصر)، والتلون البنى browning والأسود blackening؛ بتكوين مركبات الميلانين القاتمة اللون، والتلون البرونزى bronzing؛ نتيجة لتحلل وانهيار خلايا البشرة مع بقاء النسيج الوسطى سليمًا (وهو ما قد يختلط بأعراض الإصابة بالعنكبوت الأحمر).

(2) تغيرات اللون غير المتجانسة التوزيع:

قد تكون تغيرات اللون غير متجانسة التوزيع، ويتضمن ذلك ما يلى:

(أ) الموزايك Mosaic:

يتميز الموزايك بظهور مناطق خضراء باهتة اللون، أو صفراء متبادلة على سطح الورقة مع مناطق خضراء. تكون هذه المناطق ذات زوايا؛ حيث تحدها العروق الصغيرة التى توجد بالورقة.

(ب) التبرقش Mottling:

تكون المناطق المختلفة فى اللون متبادلة مع المناطق الطبيعية اللون كما فى الموزايك، إلا أنها تكون متداخلة مع بعضها، وذات حواف دائرية.

(جـ) البقع الموضعية Local Lesions:

تتراوح البقع الموضعية فى المساحة من بقع صغيرة مثل سن الدبوس pin-point إلى مساحات كبيرة غير منتظمة الشكل. وتكون هذه البقع صفراء، أو متحللة.

(د) البقع الحلقية Ringspots:

قد تكون الحلقات مفردة، أو عديدة ومتتابعة حول مركز واحد للبقعة Concentric، وتشمل أنسجة صفراء أو متحللة يفصل بينها نسيج سليم.

(هـ) التخطيط Streaking:

يظهر التخطيط على شكل مناطق صفراء طويلة ذات حدود واضحة.

(3) تغيرات اللون المتجانسة التوزيع على أجزاء معينة من الورقة .. ويتضمن ذلك ما يلى:

(أ) اصفرار العروق Vein Yellowing:

يظهر اللون الأصفر على العروق نتيجة لغياب الكلوروفيل مع بروز لون الكاروتينات والزانثوفيللات.

(ب) شفافية العروق Vein Clearing:

تبدو العروق نصف شفافة Translucent.

(جـ) تحوط العروق Vein Banding:

تبدو العروق محاطة بمناطق مختلفة اللون عن بقية نصل الورقة.

(د) تحلل العروق Vein Necrosis:

يكون ذلك مصاحبًا بموت النسيج الوعائى فى الورقة وتحلله واكتسابه لونًا بنيًّا.

ب - الأزهار:

إن من أهم التغيرات فى لون الأزهار ما يلى:

(1) تحول الأجزاء الزهرية إلى أوراق خضرية Phylloidy:

(2) انحرافات فى لون بتلات الزهرة بزيادة شدة اللون، أو ضعفه، أو حدوث تغير فى الصبغات التى توجد فى طبقة البشرة فى بتلات الزهرة.

(3) تغير فجائى Breaking، يكون عادة على صورة نقط، أو خطوط، أو أجزاء من نسيج متغير اللون، وهى أعراض قد تختلط مع التغيرات الوراثية.

(4) الاخضرار العام للبتلات Verescence.

جـ - الثمار:

قد تشمل التغيرات فى لون الثمار كل الثمرة، أو أجزاء منها، وتكون هذه التغيرات على شكل تعريق (مثل الرخام) Marbling، أو تبرقش، أو تبقع Spotting.

د - الجذور:

قد تكون التغيرات فى لون الجذور على شكل بقع، أو تحلل.

3 – التشوهات Malformations

قد تشمل التشوهات أيًّا من الأجزاء النباتية كما يلى:

أ - الأوراق:

قد تظهر تشوهات الأوراق على إحدى الصور التالية:

(1) تحرف أو تشوه Distortion .. مثل التغضن Crinkling، والالتفاف Curling، والالتواء Twisting.

(2) الانحناء لأسفل Epinasty.

(3) ضيق نصل الورقة Narrowing مع بقاء نمو العروق طبيعيًّا تقريبًا.

(4) صغر الحجم.

(5) زيادة السمك .. وقد يشمل ذلك كل نصل الورقة، أو أجزاء منه، أو يقتصر على العروق.

(6) تكوّن بروزات على نصل الورقة Enation يترتب عليها غالبًا التفافها.

ب - الأزهار .. تحدث بها أنواع مختلفة من التشوهات، وقد تظهر أجزاء زهرية غير طبيعية.

جـ - الثمار .. تتكون ثمار مشوهة وذات أشكال غير منتظمة، كما قد تتكون تورمات سرطانية، وقد تفشل البذور فى إكمال تكوينها.

د - السيقان .. تحدث بها تشوهات، وقد تقصر السلاميات.

هـ - الجذور .. قد تتحلل، أو تموت من القمة نحو القاعدة dieback، وقد تتكون بها أورام سرطانية.

4 - أعراض أخرى

تشمل الأعراض الأخرى للإصابات الفيروسية: الذبول وسقوط الأوراق Defoliation، والسقوط المبكر للأوراق، والانحراف عن العدد الطبيعى للأزهار، والإزهار المبكر أو المتأخر عن الموعد الطبيعى، وظهور طعم غير طبيعى للثمار، وتكوين إفرازات غير طبيعية، والتصمغ gummosis، وحرشفة القلف Bark Scalling، وتكوّن النقر بالخشب Wood Pitting، وتورم النموات الخضرية، وعدم توافق الطعوم Graft Incompatibility.

5 - احتجاب الأعراض Masking of Symptoms

لا تظهر أية أعراض للإصابة بالفيروسات – تحت بعض الظروف – بالرغم من وجود الفيرس فى النبات، وهى الحالة التى تعرف باسم الإصابة الكامنة Latent Infection، وترجع إلى عوامل خاصة كدرجة الحرارة. والضوء، ونقص أو زيادة العناصر الغذائية.

6 - تحمل الإصابة Tolerance

تظهر حالة تحمل الإصابة عندما لا تظهر أية أعراض مرضية على النبات بالرغم من حمله للفيرس، وهى ترجع إلى التركيب الوراثى للعائل.

7 - العوامل المسببة لأعراض شبيهة بأعراض الإصابات الفيروسية

من أهم هذه العوامل الطفرات التى تتسبب فى ظهور نموات غير طبيعية، ونقص العناصر، وأضرار مبيدات الحشائش، وأضرار الإصابات الحشرية والأكاروسية، وأضرار ملوثات الهواء الجوى.

وتتميز جميع هذه الحالات بأن أعراضها لا تنتقل خلال التطعيم، أو مع العصير الخلوى.

ثانيًا: تحديد الخصائص الطبيعية للفيرس

من أهم الخصائص الطبيعية التى تفيد فى التعرف على هوية الفيرس ما يلى:

1 – درجة الحرارة المثبطة للفيرس Thermal Inactivation Point:

تعرف درجة الحرارة المثبطة للفيرس بأنها الدرجة التى تلزم لتثبيط نشاط الفيرس – فى العصير الخلوى – تمامًا خلال فترة تعرض للحرارة مقدارها عشر دقائق.

ولإجراء اختبار درجة الحرارة المثبطة للفيرس .. يتم تحضير العصير الخلوى للنبات المصاب بالفيرس فى محلول منظم مناسب، ثم ترشيحه، وإضافة ملليلترين من الراشح إلى كل واحد من ثمانى أنابيب خاصة ذات غطاء بـ "قلاووظ". توضع هذه الأنابيب فى حمامات مائية ذات حرارة تتراوح من 30-100ْم بفارق 10ْم بينها. تترك الأنابيب فى الحمامات المائية لمدة 10 دقائق، ثم تخفض حرارتها بسرعة؛ بتعريضها لتيار من الماء البارد. ويلى ذلك اختبار فاعلية الفيرس بعد المعاملة باستخدامه فى عدوى نباتات قابلة للإصابة، ويفضل أن تكون النباتات من التى يُحدث فيها الفيرس بقعًا موضعية.

تلاحظ النباتات المختبرة لمدة أربعة أيام إلى ثلاثة أسابيع، وعلى ضوء النتائج .. يحدد المجال الحرارى الذى يحدث عنده التثبيط (مثلاً من 60-70ْم). ولتحديد درجة الحرارة التى يحدث عندها التثبيط .. يكرر الاختبار السابق مع استخدام حمامات مائية ذات درجات حرارة تتراوح بين 59 و 71ْم بفارق ثلاث درجات، حيث تكون درجة الحرارة المثبطة للفيرس هى أقل درجة حرارة لا يصاحبها ظهور أية أعراض للإصابة بالفيرس.

ويقدر معامل التثبيط الحرارى Thermal Inactivation Coefficient للفيرس – فى الحالات التى يُحدث فيها الفيرس بقعًا موضعية على النباتات المختبرة – كما يلى:

Qt = (CO – CT) / (CO-CT-t)

حيث إن:

Qt = معامل التشبيط الحرارى الذى يرتبط بفرق فى درجة الحرارة قدره t.

Co = التركيز الأصلى للفيرس (عدد البقع الموضعية التى يحدثها العصير الخلوى غير المعامل حراريًّا).

CT = تركيز الفيرس بعد معاملته حراريًّا عند درجة حرارة T.

CT-t = تركيز الفيرس بعد معاملته حراريًّا عند درجة حرارة مقدرها (T-t).

وتكون قيمة t عادة 10 درجات مئوية، كما تكون قيمة Qt أكثر دقة كلما كانت T أقل قليلاً من درجة التشبيط الحرارى.

2 – فترة احتفاظ الفيرس – وهو خارج العائل – بقدرته على إحداث الإصابة Longevity in Vitro:

تعرف هذه الفترة بأنها المدة التى يظل معها الفيرس – المحمول فى العصير الخلوى المستخلص من النبات المصاب – قادرًا على إحداث الإصابة، مع حفظ العصير الخلوى خلال تلك الفترة فى درجة حرارة الغرفة (20-22ْم).

وتقدر تلك الفترة بتحضير عصير خلوى رائق (مرشح) لنبات مصاب، ويضاف إليه 0.01% استربتوميسين، أو أوريوميسين Aureomycin لمنع أى تلوث بكتيرى، ويلى ذلك وضع العصير المعامل فى أنابيب ذات غطاء بـ "قلاووظ" بمعدل ملليلترين من العصير بكل أنبوبة. ويستخدم العصير المخزن بهذه الطريقة فى عدوى عائل مناسب، ويفضل أن يكون من العوائل التى يحدث فيها الفيرس بقعًا موضعية.

يجرى اختبار فاعلية الفيرس بعد 1، و 3، و 6، و 9، و 12، و 15، و 30، و 60، و 90، و 150 يومًا من التخزين. وإذا اتضح أن مدة احتفاظ الفيرس بفاعليته تقع بين فترتين متباعدتين (مثل بين 15، و 30، أو بين 30، و 60 يومًا) .. لزم إعادة الاختبار، مع قصر معاملات التخزين فى حدود الفترتين اللتين دل عليها الاختبار الأول، واختبار فاعلية الفيرس كل 2-5 أيام.

وإذا أجرى هذا الاختبار على فيرس يُحدث بقعًا موضعية على عوائل دالة indicator hosts، فإنه يمكن تقدير "فترة نصف الحياة" Half Life time - وهى الفترة التى تفقد فيها عشيرة متجانسة من الفيرس نصف نشاطها - حسب المعادلة التالية:

$$t\ 1/2 = (T \log 2) / (\log Po - \log P1)$$

حيث إن:

t 1/2 = فترة نصف الحياة.

Po = نشاط العشيرة الأصلية (العصير الخلوى المستخلص قبل تخزينه).

P1 = نشاط العشيرة بعد مرور فترة مقدارها T.

T = فترة المعاملة.

3 - نقطة التخفيف النهائى Dilution End Point:

تعرف نقطة التخفيف النهائى بأنها أقصى تخفيف ممكن للعصير الخلوى للنبات المصاب يسمح باستمرار احتفاظه بالقدرة على إحداث الإصابة بالفيرس.

وتقدر نقطة التخفيف النهائى بسحق أوراق نبات مصاب (فى هاون صينى) مع كمية قليلة من محلول منظم buffer مناسب، ثم تحضير سلسلة من التخفيفات من العصير الخلوى تتراوح من 10-1 إلى 10-8 بفارق 10-1. يحضر كل تخفيف برج التخفيف السابق له جيدًا، ثم يؤخذ منه ملليلتر واحد ويخفف بـ 9 مل من المحلول المنظم. تستخدم هذه المستويات من العصير الخلوى الأصلى والمخفف فى عدوى عائل مناسب، ويفضل أن يكون من العوائل التى يُحدِث فيها بقعًا موضعية. وبناء على نتيجة الاختبار .. يحدد أقصى تخفيف يستمر معه الفيرس فى إحداث الإصابة.

هذا .. ولم يعد مقبولاً الاعتماد على تلك الطرق بصورة مطلقة بسبب التباينات الكثيرة التى تصاحبها.

ثالثًا: اختبارات الصفات الكيميائية والفيزيائية للفيرس

تعتمد اختبارات الصفات الكيميائية والفيزيائية على خصائص محددة، ومن أمثلتها ما يلى:

1 - معامل الترسيب sedimentation coefficient ومعامل الانتشار diffusion coefficient.

2 - النطاق الطيفى لامتصاص الأشعة فوق البنفسجية ultraviolet absorption spectrum.

3 - خصائص حركة الانتقال فى الحقل الكهربائى electrophoretic mobility.

4 - الطرد المركزى الفائق ultracentrifugation:

لكل فيرس خصائص مميزة له تتعلق بعملية الطرد المركزى الفائق.

5 - الفحص بالمجهر الإليكترونى لأجل تحديد حجم الفيرس وشكله (عن Hull 2002).

يُتعرف على حجم الفيرس وشكله بواسطة الميكروسكوب الإليكترونى، ويستخدم لذلك تحضيرات نقية، أو شبه نقية semi-purified من الفيرس؛ الأمر الذى يتطلب عدة دورات من الطرد المركزى السريع والبطئ، يعقبها طرد مركزى يعتمد على الكثافة Centrifugation Density. ويمكن كذلك إجراء الفحص باستخدام العصير الخلوى للنبات. وللتفاصيل الخاصة بهذه الطريقة .. يراجع Green (1984).

رابعًا: الطرق التى تتضمن الأنشطة البيولوجية للفيرس

إن من أهم طرق الفحص والتحاليل التى تتضمن الأنشطة البيولوجية للفيرس، ما يلى:

1 - اختبارات العدوى أو القدرة على الإصابة:

من بين اختبارات العدوى أو القدرة على الإصابة infectivity assays، ما يلى:

أ - الاختبار الكمى المعتمد على البقع المحلية Quantitative assay based on local lesions.

يتعين - فيما يتعلق باختبار البقع المحلية - أن يؤخذ فى الاعتبار، ما يلى:

(1) توجد تباينات كبيرة بين أوراق النوع النباتى الواحد فى عدد البقع المحلية التى يمكن أن تظهر عليها، بسبب أمور كثيرة، مثل: عمر النبات، وعمر الورقة، والحالة الغذائية للنبات، ودرجة الحرارة السابقة للحقن والتالية لها، وشدة الإضاءة السابقة للحقن والتالية لها، وفصول السنة التى يُجرى فيها الحقن، والوقت من النهار عند إجراء الحقن.

وفى كل الحالات، فإن التباينات فى عدد البقع المحلية المتكونة تكون أقل بين النصفين المتقابلين للورقة الواحدة عما بين الأوراق المختلفة.

(2) توجد خصائص مميزة للمنحنى الذى يعبر عن العلاقة بين تركيز اللقاح الفيروسى وعدد البقع المحلية المتكونة، كما يلى (شكل 2-4):

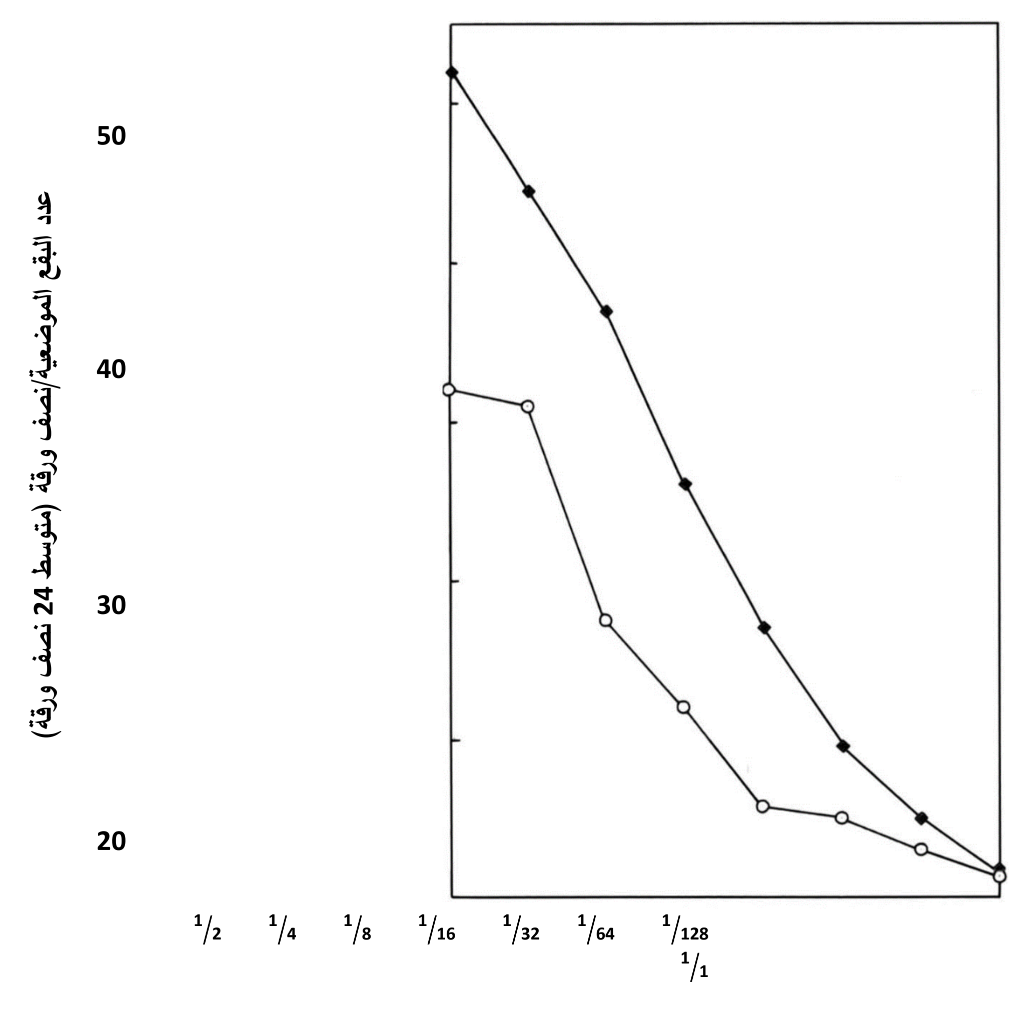
(أ) عندما يكون تركيز الفيرس عاليًا لا يؤدى التخفيف البسيط إلى إحداث تغيراً يذكر فى عدد البقع المحلية المتكونة.

(ب) فى وسط المنحنى يترتب على تخفيف تركيز الفيرس انخفاضًا مقابلاً فى عدد البقع المحلية.

(جـ) وعندما يكون تركيز الفيرس شديد الانخفاض لا يترتب على التخفيف الإضافى للقاح الفيروسى تغيراً إضافيًا يذكر فى عدد البقع المحلية المتكونة.

(3) العلاقة بين عدد البقع المحلية وتركيز جزيئات الفيرس القادرة على إحداث الإصابة:

حتى مع أخذ التباينات من ورقة لأخرى فى الاعتبار، ومع الالتزام بمنتصف منحنى التخفيف، فإن عدد البقع المتكونة لا يمكن ترجمته - مباشرة - إلى جزيئات فيروسية قادرة على إحداث الإصابة infective virus content.



شكل (2-4): منحنى العلاقة بين شدة تخفيف اللقاح الفيروسى وعدد البقع المحلية المتكونة المنتجة بواسطة فيروسين: المنحنى (■) لفيرس Tobacco bushy stunt (TBSV) فى Nicotiana glutinosa، والمنحنى (o) لفيرس موزايك التبغ Tobacco mosaic (TMV) فى N. glutinosa (عن Hull 2002).

ب - الاختبارات التى تعتمد على النسبة المئوية للنباتات المصابة:

تُجرى الاختبارات التى تعتمد على النسبة المئوية للنباتات المصابة - لدى الحقن بالفيرس - حينما لا يوجد عائل يُحدث به الفيرس المعنى إصابات موضعية، وكذلك فى حالات نقل الفيرس بالنواقل المختلفة vectors.

2 - استعمال العوائل الدالة indicator hosts فى التعرف على الفيرس:

تعطى العوائل الدالة أعراضًا واضحة ومحددة ومميزة لدى عدواها بالفيرس المعنى، ويتعين البحث عن تلك العوائل - لكل فيرس - بين مختلف الأنواع والأصناف النباتية، وحتى بين سلالات الصنف الواحد. وغالبًا ما تجرى الاختبارات فى الصوبات الزجاجية. وتتوفر قوائم بالعوائل الدالة لكثير من الفيروسات النباتية الهامة.

3 - الاعتماد على مدى العوائل فى التعرف على الفيرس:

كان مدى العوائل host range من أوائل الدلائل التى اعُتمد عليها فى التعرف على الفيروسات، ومازال له أهمية فى بعض الحالات، ولكن يتعين أن تؤخذ بعض الأمور فى الاعتبار حتى لا نتوصل من هذا الاختبار إلى نتائج مضللة، كما يلى:

أ - الحالات التى تُصاب فيها النباتات بالفيرس دون أن تظهر عليها أية أعراض، والتى يمكن اكتشاف تواجد الفيرس فيها بإجراء اختبارات طرق الانتقال (لعائل آخر يعرف بقابليته للإصابة بالفيرس)، مثل التطعيم، وميكانيكيًا، وبالنواقل vectors المختلفة ... إلخ.

ب - التباينات التى يمكن أن تحدث فى حالة اختبارات النقل الميكانيكى.

جـ - التباينات التى يمكن أن تحدث من جراء حقن أنواع نباتية كثيرة تتباين أصلاً فى احتياجاتها البيئية للنمو.

د - تباين سلالات الفيرس الواحد فى مدى عوائل كل منها.

4 - الاعتماد على طرق الانتقال الفيروسى فى التعرف على الفيرس:

يعد تحديد الوسـائل التى ينتقل بها الفيرس فى الطبيعة أمرًا بالغ الأهمية، ليس فقط لتحديد هوية الفيرس، وإنما كذلك لدراسات التربية لمقاومة الفيرس، فضلاً عما لذلك من أهمية بالغة فى التعرف على أكثر الوسائل فاعلية فى مكافحة الفيرس. ولذا .. فإننا نتناول موضوع انتقال الفيروسات إلى النباتات بالتفصيل فى موضع آخر من هذا الكتاب.

5 - الاعتماد على التغيرات السيتولوجية التى تحدثها الإصابات الفيروسية فى التعرف عليها.

6 - الاعتماد على تباين الأعراض التى تظهر على بعض الأنواع النباتية عند حقنها بمخلوط من فيروسين أو أكثر.

7 - الاعتماد على تباين الفيروسات فى مقدرتها على الاحتفاظ بقدرتها على إحداث الإصابة بعد تخزينها لفترات مختلفة (عن Hull 2002).

خامسًا: الطرق التى تعتمد على خصائص البروتين الفيروسى

تتبع الطرق السيرولوجية فى التعرف على خصائص الغلاف البروتينى الفيروسى.

وتعتمد الطرق السيرولوجية على التفاعل بين بروتين أو بروتينات (تسمى أنتيجينات) فى المسبب المرضى مع أجسام مضادة لها تُنتج فى الفقاريات عند حقنها بتلك البروتينات.

يُستعمل المصطلح immunoglobulin - أحيانًا - كبديل لمصطلح الجسم المضاد antibody، إلاّ أن الجسم المضاد هو على وجه الدقة جزئ يرتبط مع أنتيجين معروف، بينما تُشير الـ immunoglublins إلى هذه المجموعة من البروتينات بغض النظر عما إذا كانت مواقع الارتباط فيها معروفة، أم غير معروفة.

إن الأجسام المضادة تُفرَز بواسطة B lymphocytes، وهى عائلة كبيرة من الجليكوبروتينات glycoproteins التى تشترك - فيما بينها - فى تركيب مميز وصفات وظيفية خاصة.

أما الأنتيجينات فهى - عادة - جزيئات كبيرة أو أجسام تتكون من - أو تحتوى على - بـروتين أو عديدات التسـكر، وتعد غريبـة على أنــواع الفقاريات التى تحقـن فيها.

ويمكن الحصول على السيرم المنيع لكثير من الفيروسات من:

ATCC (American Type Culture Collection)

12301 Parklawn Drive

Rockville

Maryland 20852

USA

ويحضر السيرم المنيع باستخدام تحضيرات نقية أو شبه نقية من الفيرس.

ويمكن استخدام الأرانب فى إنتاج السيرم المنيع بالطريقة التالية:

يجب أن تكون الأرانب المستخدمة فى إنتاج السيرم المنيع **Antiserum** كبيرة الحجم، وأن تكون آذانها كبيرة وذات عروق واضحة.

تستخدم حقن (سرنجات) بحجم ملليلتر واحد مع ضرورة أن تكون إبرتها دقيقة. تملأ الحقنة بتحضير الفيرس، ويطرد منها الهواء، ثم تُحقن بها الأرانب داخل العرق الذى يمتد بطول السطح العلوى للأذن بمحاذاة الحافة، وعلى مسافة 3-4 مم منها. ولا تفيد محاولة استخدام العروق الأخرى برغم أن بعضها يبدو أكبر حجمًا.

وفى حالة إعطاء الأرانب سلسلة من الحقن فإنه يفضل إعطاء الأولى منها قرب نهاية الأذن، ثم تعطى الباقيات فى مواضع متتالية تقترب من قاعدة الأذن تدريجيًا.

وبعد مرور أسبوعين من الحقن .. تتم إسالة دم الأرنب من الأذن الأخرى بعمل قطع صغير فى العرق الحافى بالقرب من قاعدة الأذن باستعمال مشرط حاد. وفى حالة عمل سلسلة من القطوع لإسالة مزيد من دم الأرنب فإنه يفضل عملها فى مواضع متتالية تقترب من طرف الأذن تدريجيًّا.

يجمع الدم فى أنبوبة اختبار، ويترك لعدة ساعات حتى يتخثر، ثم يفرغ السيرم المنيع ويوضع فى جهاز طرد مركزى للتخلص من أية خلايا دم حمراء قد تكون متبقية فيه.

وجدير بالذكر أن هذا السيرم المنيع لا يكون معقمًا، ولذا .. يجب تخزينه فى ظروف جيدة تمنع النمو البكتيرى فيه (Smith 1977).

وأكثر الإختبارات السيرولوجية استخدامًا ما يلى:

1 - اختبار الترسيب الدقيق Microprecipitation test فى أنابيب اختبار صغيرة.

2 - اختبار أوشترلونى Ouchterlony agar gel double diffusion test فى أطباق بترى.

3 - اختبار المناعة المرئى بالميكروسكوب الإليكترونى Immunosorbent electron microscopy (ISEM).

4 - اختبار المناعة المرتبط بالإنزيمات Enzyme-linked Immunosorbent assay (اختصارًا: إليزا ELISA).

يمكن إجراء الاختبارات السابقة باستخدام العصير الخلوى العادى، أو الرائق، أو الفيرس النقى.

ولمزيد من التفاصيل عن الاختبارات السيرولوجية التقليدية .. يراجع Ball (1961).

سادسًا: الطرق التى تعتمد على خصائص الحامض النووى الفيروسى

تقدمت كثيرًا الطرق التى تعتمد على دراسة خصائص الحامض النووى الفيروسى، مثل نوع الحامض النووى، وحجمه، وحركته فى المجال الكهربائى، وكيفية الانقسام وخصائص أخرى كثيرة كيميائية وفيزيائية (عن Hull 2002).

الفصل الثالث

المصطلحات المستخدمة فى مجال التربية لمقاومة الأمراض

يتعين على المشتغل بالتربية لمقاومة الأمراض أن يكون ملمًا بالمصطلحات المستخدمة فى هذا المجال، وهى كثيرة، وذلك ليكون دقيقًا فى وصفه للحالة المرضية التى يعمل عليها. وفى هذا الفصل .. نستعرض جانبًا كبيراً من تلك المصطلحات للتعرف عليها من جهة، وليكون ذلك مدخلاً للتعرف على موضوع التربية لمقاومة الأمراض - بصورة عامة - من جهة أخرى.

مصطلحات خاصة بأنواع التفاعلات البيولوجية بين الكائنات الحية

نوضح - فيما يلى - فئات أو تصنيفات التفاعلات البيولوجية التى تحدث بين الكائنات الحية التى تكون على اتصال ببعضها البعض فى البيئة التى تعيش فيها.

1 - الحياد Neutralism: لا يؤثر أى من الكائنين فى الآخر.

2 - التنافس Competition: يتأثر كلا المتنافسين سلبيًّا.

3 - تبادل المنفعة Mutualism:يستفيد كلا الكائنين المتعاونين.

4 – كومِّنسَليزم Commensalism: يستفيد أحد الكائنين من جود كائن آخر، بينما لا يتأثر هذا الكائن الثانى.

5 - أمِّنسليزم Amensalism: يضار أحد الكائنين من وجود كائن آخر، بينما لا يتأثر هذا الكائن الثانى.

6 - الافتراس Herbivory: يفترس أحد الكائنين الكائن الآخر.

7 - التطفل Parasitism: يستفيد أحد الكائنين، بينا يُضار الكائن الآخر عند تواجدهما معًا (عن Rost وآخرين 1984)، وتلك هى العلاقة التى تتطور إلى ظهور أعراض الإصابة بالأمراض على الطرف المتضرر.

ونلقى - فيما يلى - مزيدًا من الضوء على مضمون تلك المصطلحات:

● إن المنافسة لا تكون بالاتصال المباشر ولكن من خلال البيئة.

● إن الحيوان الذى يقتل حيوانًا آخر ويقتات عليه هو كائن مفترس predator، وإذا كان من آكلات اللحوم فإنه يسمى carnivore، أما ذلك الحيوان الذى يقتات على النباتات فإنه يسمى herbivore. وإذا لم يستهلك الحيوان النبات كله فإن النبات قد يعيش وهو مضار injured ويعاود نموه، ولكنه لا يكون مريضًا.

● يعنى باللفظ symbiosis المعيشة الوثيقة الدائمة لأكثر من كائن حىّ معًا أيًّا كانت العلاقة التى تربط بينها، ويندرج تحتها كلا من الـ commensalism، والـ mutualism.

● يعنى بالـ commensalism علاقة شراكة بين كائنين، والتى تكون مفيدة لأحدهما وضارة بالآخر. أما الـ mutualism فهى علاقة شراكة بين كائنين تكون مفيدة لكليهما.

● أما التطفل parasitism فهو الاعتماد الجزئى أو الكلى لكائن ما (الطفيل parasite) فى تغذيته على أنسجة كائن آخر. ومن هذا المنطق فإن الـ parasitism هو symbiosis، ويمكن أن تبقى العلاقة بينهما فى صورة commensalism، أو يتطورا إما إلى إلى mutualism، وإما إلى حالة مرضية pathogensis. هذا .. إلاّ أن المعنى المتداول والمقبول على نطاق واسع للـ parasitism هو: معيشة أحد الكائنين على حساب كائن آخر.

● قد تكون الـ parasites قد تكون خارجية التطفل ectoparasites كما فى حالتى فطريات البياض الدقيقى وبعض الأنواع النيماتودية، وقد تكون داخلية التطفل endoparasitic كما فى معظم الفطريات وكل الفيروسات.

● يختلف الـ parasite - الذى أسلفنا توضيح معناه - عن الـ parasitoid، وهى الحشرة التى تعيش فى حالة اليرقة على حشرة أخرى أو بداخلها؛ وتؤدى فى نهاية الأمر إلى موتها.

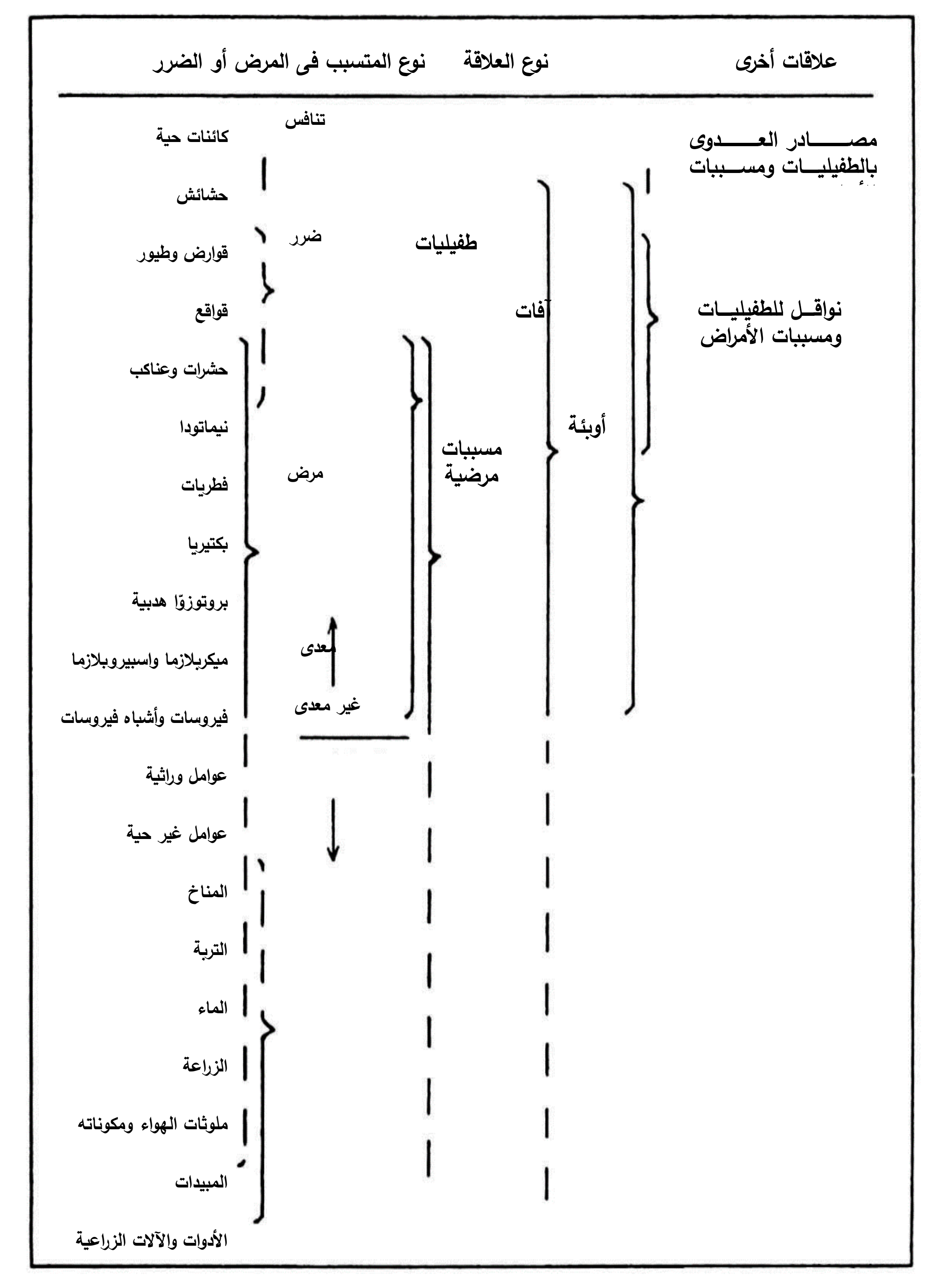
● تعرف حالة الـ pathogenism - غالبًا - بأنها محصلة التطفل parasitism إذا كان الطفيل parasite من النوع الذى يتسبب فى إحداث continuous irritation للعائل host. أما إذا لم يُحدث الطفيل parasite (أو الآفة pest التى تقتات على النبات) أكثر من الضرر damage، فإن التطفل لا يتطور إلى pathogenism.

● ومن المتفق عليه أن مفصليات الأرجل (مثل الحشرات والعناكب) تُحدث فقط أضرارًا بالنباتات، ولكنها عندما ترتبط بأعداد كبيرة بعلاقة تطفل مع النباتات فإنها قد تُحدث بها contiuuous irritation يتطور إلى pathogenism. فعلى سبيل المثال .. يمكن أن تستحث مركبات الغدد اللعابية (التى قد تكون سامة أو ذات تأثير هرمونى) عددًا من التأثيرات السامة، مثل الاصفرار والتحلل بالنموات الخضرية، وإعاقة انتقال الماء والغذاء، والتفاف الأوراق، وحدوث تضخمات فى الأنسجة، وتكون الثآليل، وغيرها من حالات النمو غير الطبيعية.

● ويعتقد البعض أن الكائن يمكن أن يكون ممرضًا pathogenic دون أن يكون متطفلاً parasitic، ويذكر كأمثلة على ذلك الكائنات التى تفرز مواد ضارة فى التربة يمكن أن تؤثر على كائنات أخرى يمكن أن تصل إليها تلك المواد من خلال البيئة (ظاهرة الـ allelopathy). كما يذكر فى هذا النطاق أيضًا الكائنات التى تعيش على أسطح النباتات دون أن ترتبط معها بعلاقة تغذية. وتعرف الكائنات المحدثة للضرر فى هذه الحالة بأنها ectopathogenic. كما أن العوامل غير الحيوية التى يمكن أن تُحدث أعراضًا مرضية - مثل ملوثات الهواء - يطلق عليها اسم abiotic pathogenic agents.

● أما الفيروسات والفيرويدات .. فعلى الرغم من أنها لا تعد كائنات حية فإنها تعتبر **parasites** فى علاقتها بعوائلها.

إن أمراض النبات هو العلم الذى يهتم بمعاناة النباتات **plant suffering**، وتبعًا لرأى بعض المهتمين بهذا العلم .. فإنه يتضمن التأثيرات الباثولوجية (المعاناة والإثارة المستمرين **continuous irritation**) على النباتات لكل من: الحشرات، والأكاروس، والنيماتودا، والحشائش، والفطريات، والبكتيريا، والفيروسات، والعوامل البيولوجية **abiotic factors**، ولكنه – أى علم أمراض النبات – لا يتضمن التأثيرات الضارة غير الباثولوجية لأى منها (عن **Bos & Parlevliet 1995**). ومن هذا المنطلق .. أُعِدَّ المخطط الموضح فى شكل (3-1) ليوضح العلاقة بين النباتات ومختلف العوامل الحية وغير الحية التى يمكن أن تؤثر فيها بصورة سلبية.



شكل (3-1): العوامل الضارة بالنباتات وعلاقاتها بها (عن Bos & Parlevliet 1995).

مصطلحات خاصة بالمرض والأوبئة

1 - المرض Disease:

المرض حالة فسيولوجية غير طبيعية، يتعرض أثناءها النبات لمعاناة مستمرة، من جرّاء تطفل أحد المسببات المرضية عليه. ويستبعد هذا التعريف كل الحالات غير الطبيعية التى لا تحدثها المسببات المرضية، سواء أكانت وراثية المنشأ، أم ترجع إلى أسباب فسيولوجية. وتعرف الحالات الأخيرة باسم العيوب الفسيولوجية Physiological Disorders، وهى غير معدية بطبيعة الحال.

2 - المرض المتوطن Endemic Disease:

المرض المتوطن هو الذى يوجد بصورة دائمة، فى منطقة معينة، على أنواع نباتية معينة، وفى مستوى معين لا يتغير.

3 - المرض الوبائى Epidemic Disease:

المرض الوبائى هو الذى يظهر بحالة شديدة فى عشيرة من العائل، بسبب حدوث زيادة كبيرة طارئة فى عشيرة الطفيل.

4 - المرض النباتى الوبائى Epiphytotic Disease:

يستخدم مصطلح المرض النباتى الوبائى كبديل لمصطلح المرض الوبائى؛ لأن الأخير يمكن أن يستخدم للدلالة على أمراض الإنسان والحيوان الوبائية.

وكما أسلفنا .. فإن المرض هو أى انحراف عن الوظائف الطبيعية للعمليات الفسيولوجية لفترة تكفى لإحداث اضطرابات فى الأنشطة الحيوية أو توقفها.

وتصف المصطلحات abnormality، و aberration، و disorder أى انحراف عن الحالة الطبيعية.

إن المرض عبارة عن عملية ديناميكية تشتمل على سلسلة من الأحداث يقود كل حدث منها – تلقائيًا – إلى الحدث التالى له، وذلك ما أن يبدأ المسبب المرضى فى عملية النشاط الممرض pathogensis.

كذلك يتضمن المرض سلسلة الأعراض symptoms التى قد يواكب بعضها بعضًا أو تظهر فى تتابع؛ لتشكل ما يعرف بالـ syndrome.

أما التواجد المادى المشاهد لأى من أجزاء المسبب المرضى أو نواتج نموه – فى الأنسجة المصابة أو عليها – فإنه يسمى "علامة" sign. وبذا .. فهى وسيلة للتمييز الفورى للمسبب المرضى والمرض.

ولعل من أبرز أعراض الحالة المرضية نقص الحيوية والقدرة على النماء؛ حيث غالباً ما يحدث نقص فى النمو، وتبكير فى الشيخوخة، وموت مبكر، وزيادة (وأحيانًا نقص) فى القابلية للإصابة بمسببات مرضية أخرى. كذلك قد تنخفض جودة المحصول وكميته. وتعد كل المظاهر غير الطبيعية لنقص الجودة سواء أكانت خارجية أم داخلية، وسواء أكانت منظورة أم غير منظورة (مثل التغيرات فى الطعم والنكهة والقيمة الغذائية) .. تعد جزءًا من الـ disease syndrome، وليست ناتجًا له.

5 – الضرر injury:

إن الضرر هو التأثير الميكانيكى البسيط للطفيل – أو أى كائن ضار آخر – على الضحية victim، بما يفيد عدم حدوث أى رد فعل بخلاف العمليات التى تقود إلى التئام الجروح. وقد يحدث الضرر الميكانيكى مرة واحدة مثلما يكون عليه الحال عند تغذية اللافقاريات، وكذلك فى حالات الاحتراق الناشئ عن التعرض لبعض المركبات الكيميائية أو للحرارة العالية. أما النباتات التى تأكلها الحيوانات التى تقتات على الأعشاب herbivores

فإنها تكون مجرد غذاء وليست عائلاً. هذا .. إلاّ أنه فى العلاقات الأكثر قربًا والطويلة الأمد بين اللافقاريات (مثلاً .. الحشرات الصغيرة، والعناكب، والنيماتودا) والنباتات، فإن الضحية victim، التى تعمل كعائل host قد تتطور فيها الأضرار والإثارة المستمرة إلى نوع من رد الفعل الباثولوجى؛ فتصبح مريضة. كذلك فإن ملوثات الهواء قد تؤثر على النباتات ميكانيكيًا (أو كيميائيًا) وتسبب أضرارًا، وقد تسبب مرضًا من خلال الإثارة المستمرة للنبات.

وبينما يحدث الضرر injury حينما يحدث تمزق لحظى للنبات، كما يحدث بفعل آلة قص العشب أو بواسطة نطاطات النباتات، فإن المرض ينتج عند تعرض النباتات لإثارة مستمرة continuous irritation بواسطة كائن ممرض. ولذا .. فإن المرض disease، والضرر injury يختلفان فى المفهوم وفى تعريف المصطلح، وإن كان كلاهما يدل على أن النبات قد تأثر.

إن المرض والضرر يقودان فى نهاية الأمر، إلى حدوث أضرار فسيولوجية وتركيبية damage، ثم إلى فقد loss فى المحصول كمًا (yield loss) ونوعًا (economic loss)، وقد يطلق على تأثيراتهما لفظ أذى harm، وهو تعبير يغطى كلا من الـ damage، والـ injury، والـ loss (Bos & Parlevliet 1995).

مصطلحات خاصة بالعائل والطفيل والمسبب المرضى

1 - الطفيليات الإجبارية Obligate Parasites:

الطفيليات الإجبارية هى تلك التى لا يمكنها النمو رميًا فى الظروف الطبيعية.

2 - الطفيليات الاختيارية Facultative Parasites:

يستخدم هذا المصطلح لوصف الكائنات الممرضة التى تنمو رميًا بصورة أساسية، ولكنها تصبح متطفلة فى ظروف خاصة.

3 - الرميات الاختيارية Facultative Saprophytes:

يستخدم هذا المصطلح لوصف الكائنات التى تنمو متطفلة وممرضة بصورة أساسية، ولكنها قد تنمو رميًا فى ظروف خاصة.

وغنى عن البيان أن الرميات الإجبارية Obligate Saprophytes - وهى التى لا يمكنها النمو إلاّ رميًا - ليست من مسببات الأمراض.

4 - العائل Host:

العائل هو الكائن الحى الذى يأوى الطفيل ويمده بالغذاء اللازم لنموه وتكاثره. وقد يستخدم مصطلح "عائل" للدلالة على نبات واحد، أو عشيرة من النباتات، أو مرتبة تقسيمية Taxon معينة. وفى علم النيماتولوجى .. لا يعد النبات عائلاً إلا إذا سمح بتكاثر النيماتودا التى أصابته.

5 - المسبب المرضى Pathogen:

المسبب المرضى هو الكائن القادر على إحداث المرض فى عائل معين، أو فى مجموعة من العوائل.

6 - القدرة على الإصابة Pathogenicity:

يُعنى بهذا المصطلح قدرة المسبب المرضى على إحداث المرض، وقد توصف هذه القدرة بنوعية المقاومة التى يمكنها التغلب عليه، فنجد مثلاً: **Vertical Pathogenicity**، و **Horizontal Pathogenicity** ... إلخ.

7 - العائل القابل للإصابة Suscept:

يقابل هذا المصطلح المسبب المرضى **Pathogen**، بينما يقابل العائل **Host** الطفيل **Parasite**.

8 - غير عائل Non-host:

يستخدم هذا المصطلح فى علم النيماتولوجى لوصف الحالات التى لا يمكن فيها للنيماتودا أن تتكاثر على النبات، سواء أكانت النباتات منيعة **Immune**، أم قابلة للإصابة **Susceptible to Infection**، علمًا بأن مصطلح **Infection** يعنى به – فى علم النيماتولوجى – مجرد اختراق اليرقة لأنسجة العائل.

مصطلحات خاصة بالحقن (العدوى) وتطور الإصابة

1 - اللقاح Inoculum:

يطلق اسم اللقاح على أى فيرس أو أى جزء من كائن حى قادر على إحداث الإصابة فى كائن قابل للإصابة. وقد يتكون مصدر اللقاح من المسببات المرضية ذاتها، أو من أجزاء منها - مثل الهيفات الفطرية، والجراثيم الكونيدية، والأجسام الحجرية - أو الجراثيم الجنسية، أو الخلايا البكتيرية، أو الفيروسات.

2 - مصدر اللقاح Source of Inoculum:

مصدر اللقاح هو الشئ أو المكان الذى ينتج فيه أو عليه اللقاح، مثل الأوراق المصابة، والتربة، والبيئة الصناعية، والتقرحات Cankers ... إلخ.

3 - العدوى المبدئية Initial Inoculum:

يعنى بهذا المصطلح الكمية الفعلية من عشيرة الكائن المرضى عند بداية الوباء.

4 - مدخل الإصابة Infeetion Court:

هو المكان الذى يوجد فى العائل، أو عليه، والذى يبدأ فيه المسبب المرضى النشاط المؤدى إلى حدوث الإصابة. وقد يكون مدخل الإصابة ثغرًا بالورقة، أو عديسة، أو ثغرًا مائيًّا، أو جرحًا بالساق أو الجذر ... إلخ.

5 - الحقن (إحداث العدوى) Inoculation:

هى عملية نقل اللقاح من مصدره إلى مدخل الإصابة. ويقتصر هذا التعريف للمصطلح على حقن الكائنات الحية فقط، إلاّ أن المصطلح الإنجليزى يستعمل كذلك عند زراعة البيئات الصناعية.

6 - الاختراق Penetration (أو Ingress):

هى عملية دخول المسبب المرضى إلى العائل من خلال مداخل الإصابة Infection Courts، أو مباشرة.

7 - فترة الحضانة Incubation Period:

هى الفترة التى تمر ما بين الحقن Inoculation إلى حين حدوث الإصابة Infection وبدء النشاط المرضى للمسبب المرضى، ولكن البعض يفضل استخدام هذا المصطلح للدلالة على الفترة التى تمر ما بين عملية اختراق المسبب المرضى Penetration (أو ingress) للعائل إلى حين حدوث الإصابة.

8 - الإصابة Infection:

يستعمل هذا المصطلح فى علم الفطريات لوصف الخطوات التى يمر بها الفطر ابتداء من لحظة ملامسته للنبات إلى حين تكوينه لاتصال بيولوجى مناسب مع أنسجة العائل وبدء نشاطه المرضى (الباثولوجى). أما فى علم النيماتولوجى .. فإن مصطلح Inection يعنى به مجرد اختراق يرقات النيماتودا الداخلية التطفل لجذور النبات، دونما أية إشارة إلى تغذيتها، أو حتى مجرد قدرتها على المعيشة داخل الجذر.

9 - تطور المرض Disease Development:

هى مجموعة الأحداث التى تمر ابتداء من الإصابة Infection إلى حين ظهور أعراض المرض.

10 - جيل المرض Generation of Disease:

يعنى بالجيل المرضى كل دورة مرضية تصاب خلالها أنسجة جديدة من العائل.

تعرف بداية العلاقة بين الطفيل والعائل، أو بداية هجوم أو تعدى الطفيل على العائل باسم attack. يلى هجوم الطفيل - سواء أكان خارجى التطفل ectoparasitic، أم داخلى التطفل endoparasitic - وبداية حصوله على غذائه من العائل بدء حالة الإصابة infection. وتتضمن الإصابة استقرار وضع الطفيل داخل العائل واستعماره له، وقد تتضمن عدة عمليات مستمرة ومتتابعة تؤثر على خلية، أو نسيج، أو عضو ما واحدًا بعد الآخر. ويغطى مصطلح الإصابة كافة العلاقات المتوافقة compatible relationships بين الطفيل والعائل.

ومن المقبول به على نطاق واسع أن المصطلح infestation يعنى به فى أمراض النبات "التلوث" سواء أكان سطحيًّا للأعضاء النباتية كالبذور (ولكن دون وجود أى علاقة بيولوجية بين الكائن المُلوِّث والأنسجة النباتية)، أم للبيئة كالتربة أو الماء أو الهواء. وبديهى أن الكائن المُلوِّث قد يكون مسببًا مرضيًّا (ولكنه لم يرتبط بعد بعلاقة بيولوجية مع النبات) أو كائنًا رميًّا. هذا إلاّ أن البعض (مثل Bos & Parlevliet 2002) يعتبرون أن حالات التطفل الخارجى التى يعيش فيها الكائن الممرض خارج العائل ويحصل على غذائه منه وهو على هذا الوضع - مثل النيماتودا الحرة الخارجية التطفل وفطريات البياض - يعتبرونها حالات infestation، ولكن يرى المؤلف أن تلك حالات تطفل خارجى لا لبس فيها باعتبار العلاقة البيولوجية التى تربط بين الطفيل والعائل.

أما الحقن أو التلقيح inoculation فتعنى معاملة النباتات أو بيئات المزارع بكائن دقيق أو فيرس، أو هى عملية نقل المادة الحاملة للطفيل أو أحد أجزاءه التكاثرية إما إلى نسيج أو كائن حىّ بهدف إصابته، وإما إلى بيئة زراعة بهدف إكثاره. وتعتبر الـ inoculation عملية نشاط إنسانى ولو إجريت عملية النقل بالاستعانة بالنواقل vectors.

ويتضمن المصطلح attack العلاقات غير الطفيلية nonparasitic relationships بين النبات والآفات، والتى تقود إلى حدوث أضرار injuries، كما يتضمن حالات النشاط قصير المدى للحشرات أو النيماتودا على النباتات (عن Bos & Parlevliet 1995).

مصطلحات خاصة بالمقاومة ومستوياتها ونوعياتها

1 – المقاومة Resistance:

هى قدرة العائل على الحد من نمو وانتشار الطفيل، كما يعنى بالمصطلح - فى علم النيماتولوجى - اختراق أعداد قليلة من اليرقات حتى فى وجود أعداد كبيرة منها، وتوفر الظروف المناسبة للإصابة.

2 - القابلية للإصابة Susceptibility:

تتناسب القابلة للإصابة عكسيًا مع المقاومة، ويقدر كلاهما على مقياس واحد.

ويوصف النبات بأنه vulnerable (فيما يتعلق بالإصابة بالمسببات المرضية) عندما يكون عديم القدرة على الدفاع عن نفسه ضد الإصابة بالمسببات المرضية وغزوها له (عن Bos & Parlevliet 1995).

3 – عائل غير مناسب Unsuitable Host:

يستخدم هذا المصطلح فى علم النيماتولوجى لوصف العوائل التى يحدث فيها نمو وتطور عاديان للنيماتودا، ولكن ببطء شديد، وبذا .. لا تتكاثر فيها النيماتودا بنفس السرعة التى تتكاثر بها فى العوائل المناسبة.

وقد اقترح Barker (1993) تعريف حالات المقاومة بصورة أكثر تحديدًا، كما يلى:

أ – المقاومة للكائن المتطفل resistance to parasite:

هى أى من صفات أو خصائص العائل التى تمنع تطور الكائن الممرض، أو تقلله أو تبطئه.

ب – المقاومة للمرض resistance to disease:

هى أى من صفات أو خصائص العائل التى تمنع تطور ظهور أعراض المرض أو أضراره، أو تقللها، أو تبطئ حدوثها.

جـ - المقاومة العامة overall (general) resistance:

هى أى من صفات أو خصائص العائل التى تمنع تطور الكائن الممرض والمرض الذى يحدثه أو تقللهما، أو تبطئ منهما.

4 – المناعة Immunity:

يعنى بالمناعة المقاومة المطلقة؛ أى عدم القابلية للإصابة، وهى لا يمكن وصفها بدرجات؛ فالعائل إما يكون منيعًا، وإما أن يكون غير منيع. وتعد أى درجة أقل من المناعة مقاومة.

إن النبات الذى يتعرض لهجوم آفة يعد قابلاً للإصابة بها، أى إنه suscept، وهو مصطلح يعنى أن هذا النبات متأثر أو قابل للتأثر بتلك الآفة أيًا كانت فترة التفاعل بينهما. ولكن عندما تستقر حالة من التطفل تحصل خلالها الآفة على غذائها من النبات فإنه يصبح عائلاً host لها؛ فالعائل هو الكائن الذى يأوى طفيل.

وتعد معظم الكائنات الراقية - بما فى ذلك النباتات – منيعة immune ضد الإصابة infection أو حتى مجرد التعرض لهجوم attack بمعظم الكائنات الدقيقة والفيروسات التى تتواجد فى البيئة الطبيعية؛ فهى ليست قابلة للإصابة nonsuceptible وليست عوائل nonhosts لتلك الكائنات الدقيقة والفيروسات. وبمعنى آخر .. فإن معظم توافقات النباتات والكائنات الدقيقة أو الفيروسات - أو حتى الكائنات الراقية الأخرى التى قد تكون عدوانية أو ممرضة أحيانًا (كالنباتات المتطفلة) - لا تكون متوافقة incompatible. هذا إلاّ انعدام التوافق هذا لا يستبعد محاولات من تلك الكائنات (التى قد تكون ممرضة) للهجوم على النباتات (التى قد يحتمل أن تكون عوائل لها)، مع ما يصاحب ذلك من ردود أفعال دفاعية. وتعرف علاقة عدم التوافق التام باسم المناعة immunity، وهى تعنى الغياب الكامل لنجاح أى هجوم من قِبل كائن ممرض أو فيرس، والغياب الكامل لأى إصابة، والغياب الكامل لتواجد المسبب المرضى المحتمل.

تظهر حالة عدم التوافق incompatibility - تبعًا لنظرية الجين للجين - عندما يتفاعل ناتج جين المقاومة فى العائل مع ناتج جين الـ avirulence فى المسبب المرضى، أو عندما يتفاعل ناتج جين القابلية للإصابة فى العائل مع ناتج جين الـ virulence فى المسبب المرضى. ومن هذا المنطلق، فإن جين الـ avirulence يكون هو الجين النشط، بينما يكون مرد الـ virulence إلى غياب الـ avirulence، حيث يصبح جين المقاومة غير قادر على التعرف على ناتج جين الـ avirulence، ومن ثم يعود المسبب المرضى إلى حالته الأصلية من الـ aggressiveness (عن Bos & Parlevliet 1995).

5 – تحمل الإصابة Tolerance:

يستخدم مصطلح القدرة على تحمل الإصابة فى وصف العلاقة بين العائل والطفيل الذى يعتمد عليه دون أن يحدث فيه أضرارًا، كأن يتكاثر الفيرس داخل النبات دون أن تظهر على النبات أية أعراض مرضية، وهى الحالات التى يطلق عليها – أيضًا – اسم symptomless carriers وقد تكون هذه الأعراض طفيفة بالرغم من تكاثر الفيرس جهازيًّا داخل النبات، ولهذه الحالة أهمية خاصة فى محاصيل السلاطة كالخس؛ حيث يكون لمظهر النبات أهمية كبرى.

يُعَرَّف المصطلح Tolerance - عادة - بأنه قدرة النبات على تحمل نشاط المسبب المرضى، بعدم إظهاره لأى رد فعل، أو بإظهاره قليلاً من رد الفعل تجاهه؛ الأمر الذى يترتب عليه غياب شبه كامل لأعراض الإصابة والأضرار.

ويميز البعض بين القدرة على تحمل الطفيل (القدرة على تحمل التواجد الفيزيائى للطفيل) tolerance to parasite والقدرة على تحمل تطورات المرض disease tolerance (القدرة على تحمل اجتياح المسبب المرضى، كما تظهر فى صورة ضعف تأثر النمو النباتى والمحصول بذلك الاجتياح). وتواصلاً مع هذا التوجه .. تُميِّز - كذلك - حالة تعرف بالقدرة الشاملة على التحمل overall tolerance، وهى قدرة النبات على تحمل الإصابة بالطفيل والتطورات المرضية – كليهما – دونما حدوث نقص يذكر فى النمو أو فى المحصول، مقارنة بما يمكن أن يحدث لنباتات أخرى من نفس النوع. وتسمح القدرة القصوى على التحمل extreme tolerance بإنتاج محصول طبيعى، مع عدم ظهور أية أعراض مرضية على الرغم من حدوث الإصابة.

هذا .. وتعد القدرة على التحمل نقيضًا للحساسية، وبقع كلاهما - فى صورتيهما القصوى – على طرفى مقياس واحد. ولا يمكن استعمالهما فى صورة مطلقة، فالتدرج سمة بارزة لكليهما.

وتجدر الإشارة إلى أن القدرة على التحمل ليست مقاومة جزئية أو مقاومة غير تامة، فاستخدامها من هذا المنظور غير صحيح؛ ذلك أن الحد من ظهور الأعراض بسبب قدرة النبات على الحد من قدرة المسبب المرضى على استعماره يعد مقاومة وليس تحملاً.

ولا يجوز استعمال المصطلح Intolerance بمعنى عكس القدرة على تحمل الإصابة، لأنه يعنى شدة حساسية العائل للمسبب المرضى (خاصة الفيروسى)، لدرجة أن النباتات تموت بمجرد تعرضها لأية إصابة، ويترتب على ذلك انتهاء كل من الفيرس والعائل، فيتوقف انتشار المرض (عن Barker 1993، و Bos & Parlevliet 1995).

ولمزيد من التفاصيل عن موضوع القدرة على تحمل الإصابات المرضية .. يراجع Schafer (1971).

6 - الإفلات من الإصابة Disease Escape:

قد يكون الإفلات، أو الهروب من الإصابة لأسباب بيئية، أو زراعية، وقد يرجع إلى صفات نباتية يتحكم فيها عوامل وراثية، ومن الطبيعى أن الحالة الثانية هى التى تهمنا فى هذا المقام. وجدير بالذكر أن النبات الذى يحمل عوامل وراثية تجعله يفلت من الإصابة هو نبات قابل للإصابة، ولكنه لا يصاب، لأن صفاته تحول دون وصول الطفيل إلى الموقع المناسب للإصابة فى المرحلة المناسبة من النمو النباتى، لحدوثها فى الظروف الطبيعية.

كما تقسم المقاومة حسب طبيعتها، كما يلى:

1 - المقاومة السلبية Passive Resistance:

تعود المقاومة السلبية إلى عوامل وأسباب خاصة تتوفر فى العائل قبل حدوث الإصابة وهى تعرف كذلك باسم المقاومة الاستاتيكية Static Resistance.

2 - المقاومة النشطة Active Resistance:

تعود المقاومة النشطة إلى تفاعلات تحدث بين العائل والطفيل بعد الإصابة بالمسبب المرضى، وهى تعرف أيضًا باسم المقاومة الديناميكية Dynamic Resistance.

3 - فرط الحساسية Hypersensitivity:

إن فرط الحساسية هى الحالة التى تحدث فيها استجابة موضعية عنيفة لاختراق الطفيل لأنسجة العائل، يتبعها موت سريع للأنسجة حول منطقة الاختراق، مما يؤدى إلى وقف انتشاره فى العائل.

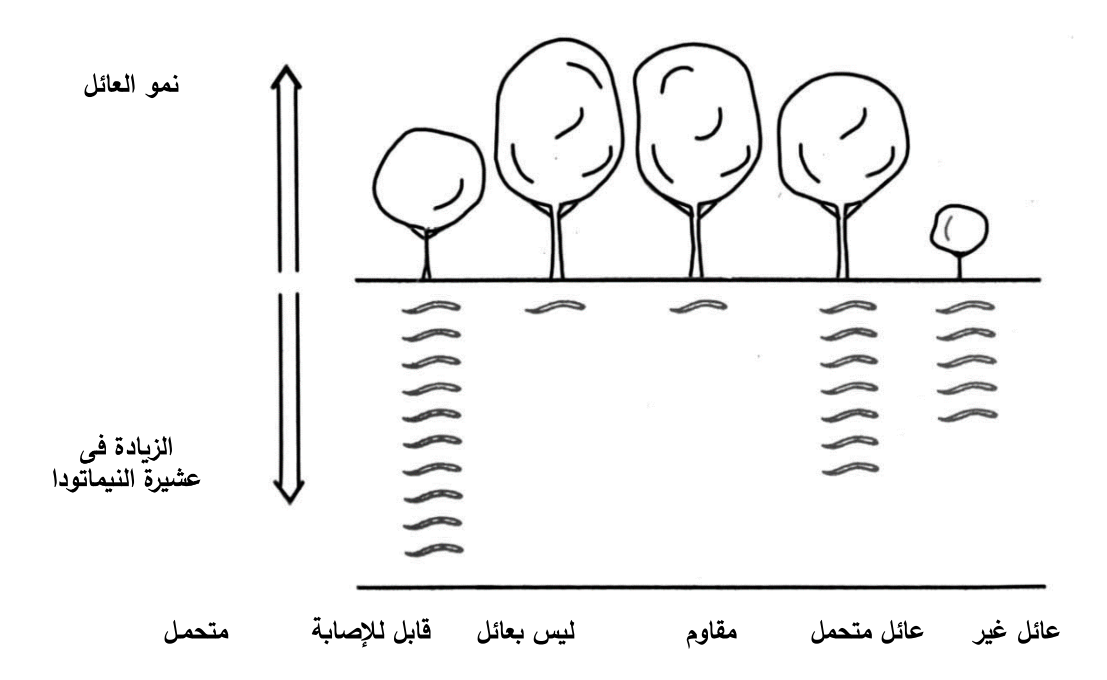
ومن بين المصطلحات المستخدمة لوصف حالات تفاعلات النيماتودا مع النباتات، ما يلى (عن Barker 1993):

1 – عندما يكون تكاثر النيماتودا جيدًا، ونمو النبات العائل جيدًا كذلك بوصف النبات بأنه مُتحمل.

2 – عندما يكون تكاثر النيماتودا جيدًا، ونمو النبات العائل لها ضعيفاً يوصف النبات بأنه قابل للإصابة.

3 – عندما يكون تكاثر النيماتودا ضعيفًا ونمو النبات العائل لها جيدًا يوصف النبات بأنه مقاوم، وقد لا يكون عائلاً.

4 – عندما يكون تكاثر النيماتودا ضعيفًا ونمو النبات العائل ضعيفًا يوصف النبات بأنه غير متحمل intolerant (شكل 3-2).



شكل (3-2): الزيادة فى أعداد النيماتودا وفى نمو العائل فى الحالات المختلفة من التفاعلات بين النيماتودا والنبات (عن Roberts 2002).

كما اقترح Trudgill (1991) - فى مجال التفاعلات بين النيماتودا والنبات كذلك - المصطلحات التالية:

تكاثر النيماتودا	نمو العائل	المصطلحات المقترحة لوصف العائل
جيد	جيد	متحمل tolerant، وغير مقاوم nonresistant
جيد	ضعيف	غير متحمل intolerant، وغير مقاوم
ضعيف	جيد	متحمل ومقاوم
ضعيف	ضعيف	غير متحمل ومقاوم

يُشير المؤلف إلى أن النباتات المقاومة غالبًا ما تُهاجم بأعداد من النيماتودا مماثلة لتلك التى تهاجم النباتات غير المقاومة؛ أى إن المقاومة لا توفر حماية للنباتات من أضرار الاجتياح النيماتودى. ومما يؤيد تلك النظرة أن بعض التراكيب الوراثية من محاصيل الحبوب، والبطاطس، وفول الصويا تعد غير متحملة intolerant (أى تحدث بها أضرار أكبر مما يحدث بالتراكيب الوراثية القابلة للإصابة) لنيماتودا التحوصل الخاصة بها.

وتعرف من حالات المقاومة للأمراض الفيروسية ما يلى:

1 - المناعة Immunity:

يعنى بالمناعة - فى حالات الأمراض الفيروسية - عدم حدوث أى تفاعل بين النبات والفيرس عند إجراء العدوى بالفيرس بأية طريقة، بما فى ذلك طريقة التطعيم، ومن هذا المنطق .. نجد أن معظم النباتات منيعة ضد معظم الفيروسات المعروفة. وعلى العكس من ذلك .. فإن القابلية للإصابة هى الاستثناء، حيث لا يصاب أى نوع إلا بعدد محدود من الفيروسات.

وغنى عن البيان أن هذا النوع من المناعة لا يدخل ضمن اهتمامات المربى؛ فما يهتم به هو مناعة صنف أو سلالة من النوع النباتى الذى يعمل على تحسينه ضد أحد الفيروسات الذى يصاب به - عادة - هذا النوع. ومن هذا المنطق .. فإن المناعة تعد نادرة، إذ يصعب - غالبًا - العثور على مناعة حقيقة ضد فيرس ما فى النوع أو الأنواع النباتية التى تصاب به عادة.

وتعرف حالات قليلة تقتصر فيها الإصابة بالفيرس - بعد إجراء العدوى به - على خلية واحدة، أو مجموعة صغيرة من الخلايا فى موقع العدوى. وقد وصفت النباتات التى وجدت فيها هذه الحالة بأنها منيعة، إلا أنها - فى واقع الأمر – ليست سوى حالة مقاومة قصوى **Extreme Resistance**، لأنه قد حدث فيها تفاعل حقيقى بين الفيرس والعائل، وهو مالا يحدث فى حالة المناعة. هذا .. ولا يمكن التفريق بين حالتى المناعة والمقاومة القصوى إلا إذا فحصت خلايا الأنسجة – المحقونة بالفيرس – بعناية تامة لمعرفة ما حدث بها.

2 - مقاومة الحقن Resistance to Inoculation:

إن المقاومة للحقن صفة وراثية تصعب - بسببها - الإصابة بالفيرس عند محاولة عدوى النبات به، بالرغم من كونه قابلاً للإصابة بهذا الفيرس. وقد أعطى هذا النوع من المقاومة أسماء مختلفة، منها: **Klendusity**، و **Infection Resistance**، والميل إلى الإفلات من الإصابة **Tendency to Escape Infection**، ولكن يفضل استخدام مصطلح المقاومة للحقن، لأن المصطلحات الأخرى يقصد بها أمور أخرى، فمصطلح **Infection Resistance** يتضمن - أيضًا - المقاومة لسرعة تكاثر وانتشار الفيرس بعد حدوث الإصابة، والمصطلح **Klendusity** لا يعنى صعوبة عدوى النبات بالفيرس، ولكنه يعنى أن الحشرات الناقلة للفيرس لا تفضل نباتات هذا الصنف فى التغذية عند وجود أصناف أخرى بجوارها تفضلها الحشرة. كما أن مصطلح الميل إلى الإفلات من الإصابة لا يصف حالة مقاومة، وإنما حالة إفلات منها لأى سبب كان.

وفى محاولة لتفسير المقاومة للحقن وضع Bawden نظرية فحواها أنه يلزم أعداد مختلفة من جزيئات الفيرس لإحداث الإصابة فى المواقع sites المختلفة من نفس العائل. وقد يبدو أن هذا الرأى يتعارض مع الرأى القائل بأن كل إصابة مردها إلى جزىء فيرسى واحد، ولكن Bawden أوضح أن الإصابة قد يحدثها جزىء فيرسى واحد، ولكن تلزم أعداد مختلفة من جزيئات الفيرس فى المواقع المختلفة بالعائل للتغلب على المقاومة، وليتمكن أحد جزيئات الفيرس من أحداث الإصابة.

ومما يؤيد هذه النظرية أن الاختلافات بين الأصناف فى مقاومتها للإصابة تختفى عند إجراء العدوى بتركيز عالٍ من الفيرس.

لا يعرف سوى القليل جدًّا عن كيفية حدوث هذه النوعية من المقاومة، وربما كان لسمك طبقة الأديم، وعدد وحجم الشعيرات التى توجد بالأوراق تأثيرات على كفاءة العدوى بالفيرس، ولكن لا تتوفر أدلة مباشرة تؤيد صحة ذلك.

تبطئ هذه النوعية من المقاومة من سرعة الوصول بالمرض إلى الحالة الوبائية، وقد استخدمت بكثرة فى إنتاج الأصناف المقاومة للأمراض الفيروسية، حيث عرفت فى كل من حالات الفيروسات التى تنتقل ميكانيكا باللمس، والتى تنقل بالحشرات، كما عرفت فى الفيروسات المسببة للاصفرار، ومن أمثلتها المقاومة لفيرس التفاف أوراق البطاطس التى ترجع إلى نقص نسبة النباتات التى تصاب بالفيرس عند عدواها به، وهى التى تتراوح من 0.3% فى الصنف المقاوم Pentland Crown إلى 20% فى الأصناف القابلة للإصابة.

3 – مقاومة انتشار الفيرس فى النبات Resistance to Virus Spread:

تظل الإصابة فى هذا النوع من المقاومة محدودة فى أماكن معينة من النبات Localized لا ينتشر منها إلى أماكن أخرى. ومن أبرز الظواهر التى توقف انتشار المرض فى النبات ظاهرة فرط الحساسية Hypersensitivity، وهى التى تموت بسببها الخلايا المصابة فى مرحلة مبكرة جدًّا.

وتختلف هذه الحالة عن حالة المقاومة القصوى (التى تكون فيها الإصابة محصورة فى خلية واحدة، أو عدد قلل من خلايا العائل)، لأن الخلايا المصابة تكون واضحة للعين المجردة فى حالة فرط الحساسية، وتظهر على صورة بقع موضعية Local Lesions صفراء أو متحللة فى الأوراق المحقونة (المعدية) بالفيرس. ويتبقى الفيرس فى هذه البقع الموضعية، وفى الخلايا غير المتحللة المجاورة لها مباشرة.

تقتصر حالة فرط الحساسية على خلايا البشرة فقط، ومما يؤيد ذلك أن نباتات Nicotiana glutinosa يمكن إصابتها جهازيًّا بفيرس موزايك التبغ إذا حدثت العدوى بطريق التطعيم، بينما تظهر عليها بقع موضعية إذا حقنت – بنفس الفيرس – بطريقة اللمس.

يتحكم فى هذا النوع من المقاومة – عادة – عامل وراثى واحد، أو عدد قليل من الجينات، وهى مقاومة تتأثر بشدة بدرجة الحرارة. وكقاعدة عامة .. فإنها تكون أقل فاعلية فى درجات الحرارة العالية.

4 - المقاومة القصوى Extreme Resistance:

توجد حالة المقاومة القصوى فى الأصناف التى لا تُظهِر أى تجاوب للحقن (العدوى) بالفيرس، فهى لا تظهر عليها أى أعراض مرضية، ولا تشجع تكاثر الفيرس فيها، حتى لو حدثت العدوى بطريقة التطعيم، ولا يعرف على وجه اليقين ما إذا كان الفيرس لا يتكاثر مطلقًا فى النباتات ذات المقاومة القصوى، أم أنه يتكاثر فيها ببطء شديد إلى درجة يصعب معها تقدير تركيز الفيرس فى النبات.

هذا .. ولا يجب الخلط بين المقاومة القصوى وبين كل من المناعة، وفرط الحساسية؛ فالمناعة تعنى عدم حدوث أية إصابة على الإطلاق، وتكون الإصابة محصورة فى خلية واحدة أو فى عدد قليل من الخلايا فى حالات المقاومة القصوى، بينما تسمح فرط الحساسية بتكاثر الفيرس وتواجده فى جميع الخلايا التى تظهر بها البقعة الموضعية، والخلايا المجاورة لها.

ومن أمثلة حالات المقاومة القصوى تلك التى وجدها Hassan & Thomas (1988) فى السلالة P.I.128655 من L. peruvianum ضد بعض عزلات فيرس اصفرار قمة الطماطم Tomato Yellow Top Virus، وفيرس التفاف أوراق البطاطس Potato Leaf Roll Virus، حيث لم تصب النباتات إلا بطريق التطعيم وبعد فترة طويلة (من 8-24 أسبوعًا) من الالتحام بين الطعم المصاب والنبات البرى، كما اختفى الفيرس من السلالة البرية بعد فترة قصيرة من فصل الطعم عنها، وكلما ازدادت الفترة التى لزمت لنقل الفيرس للنوع البرى قصرت الفترة التى انقضت لحين اختفائه منه بعد فصل الطعم عنه.

5 - مقاومة تكاثر الفيرس Resistance to Virus Multiplication:

نجد فى هذه الحالة أن النبات يحد من تكاثر الفيرس بداخله لأسباب كثيرة. وأيًّا كانت هذه الأسباب .. فقد استخدم المربون هذا النوع من المقاومة دون معرفة بحقيقة العوامل التى تمنع تكاثر الفيرس. ويكون انتخاب النباتات المقاومة - فى هذه الحالة - على أساس تقديرات الفيرس بالنباتات المختبرة، سواء أكانت بالاختبارات السيرولوجية، أم باختيار النقط الموضعية، أم بغيرهما.

ويقصد بهذا النوع من المقاومة الحالات التى تكون فيها الإصابة جهازية، والتى تقل فيها أعداد جزيئات الفيرس كثيراً، مقارنة بالأصناف القابلة للإصابة، وربما لا يتواجد الفيرس على الإطلاق فى بعض الأجزاء غير المعدية من النبات. ولذا .. فإن هذه الأصناف لا يتأثر نموها بالإصابة بدرجة كبيرة، ولا تشكل مصدرًا للعدوى وانتشار الفيرس.

6 - القدرة على تحمل الفيرس Virus Tolerance:

يلزم - فى هذا الشأن - التمييز بين أربع حالات، كما يلى:

أ - عندما تكون أعراض الإصابة بالفيرس شديدة، والضرر الاقتصادى الذى تحدثه هذه الإصابة شديدًا .. تعرف الحالة باسم حساسية Sensitivity.

ب - عندما تكون أعراض الإصابة بالفيرس شديدة، والضرر الاقتصادى الذى تحدثه هذه الإصابة قليلاً .. تعرف الحالة باسم القدرة على تحمل المرض Disease Tolerance.

جـ - عندما تكون أعراض الإصابة بالفيرس طفيفة، والضرر الاقتصادى الذى تحدثه هذه الإصابة شديدًا .. يعرف النبات باسم حامل بدون أعراض Symptomless Carrier.

د – عندما تكون أعراض الإصابة بالفيرس طفيفة، والضرر الاقتصادى الذى تحدثه هذه الإصابة قليلاً .. تعرف الحالة باسم القدرة الحقيقية على التحمل True Tolerance.

هذا .. وتفيد حالة النبات "الحامل بدون أعراض" فى محاصيل معينة؛ مثل الخضر الورقية - كالخس - حيث يمكن تسويق النبات الحامل للفيرس، أما النبات الذى تبدو عليه أعراض الإصابة .. فإنه لا يكون صالحًا للتسويق. ولكن يجب ألا يكون تأثر النباتات بالإصابة كبيرًا إلى درجة تجعل الزراعة غير اقتصادية.

7 - مقاومة الكائن الناقل للفيرس Resistance to Vector:

تعود مقاومة النباتات للكائنات الناقلة للفيروسات إما إلى عدم تفضيل التغذية على النبات Non-Preference (أو non-acceptance)، وإما إلى التأثير المثبط الذى تحدثه التغذية - على هذا النبات - فى نمو الحشرة وتطورها وتكاثرها، وهو ما يعرف باسم Antibiosis.

ويتوقف تأثير هذين النوعين من المقاومة - فى انتشار الفيرس فى الحقل - على طبيعة الفيرس، كما يلى:

أ - عندما يكون الفيرس غير متبق (أو غير مثابر) Non-Persistent فى الكائن الناقل له .. فإن انتشار الفيرس فى الحقل يكون كما يلى:

(1) ربما يزداد فى حالات عدم التفضل Non-Preference؛ لأن الكائن الحامل للفيرس لا يتغذى على النبات الواحد سوى فترة قصيرة، ثم سرعان ما ينتقل منه إلى نبات آخر .. وهكذا.

(2) قد لا يتأثر بصورة مباشرة فى حالات التضادية الحيوية Antibiosis؛ لأن الكائن الناقل للفيرس يتغذى بصورة طبيعية قبل أن يتأثر بمقاومة العائل له.

ب - عندما يكون الفيرس متبقيًا (أو مثابرًا) Persistent فى الكائن الناقل له .. فإن انتشار الفيرس فى الحقل يكون كما يلى:

(1) يقل فى حالات عدم التفضيل؛ لأن الكائن الناقل للفيرس لا يستمر فى التغذية لفترة تكفى لأن ينقل الفيرس إلى النبات السليم، أو لأن يكتسبه من النبات المصاب.

(2) لا يتأثر انتشار الفيرس بصورة مباشرة فى حالات التضادية الحيوية؛ لأن الكائن الناقل للفيرس يتغذى على النبات المقاوم بصورة طبيعية قبل أن يتأثر به.

هذا .. إلا أن الكائن الناقل للفيرس ذاته يقل تكاثره وانتشاره فى الحقل عند توفر أى من نوعى المقاومة فى الصنف المزروع. ويؤدى ذلك - بطريق غير مباشر - إلى خفض انتشار الفيرس بين النباتات فى الحقل، ولكنه لا يمنع انتقال الفيرس من حقل مجاور.

أما القدرة على تحمل الكائنات الناقلة للفيروسات .. فليست لها أى تأثير فى انتشار الفيروسات - سواء أكانت متبقية، أم غير متبقية - وليس لهذه القدرة تأثير فى أعداد الحشرة ذاتها (Russell 1978).

ولمزيد من التفاصيل عن أهمية التربية لمقاومة الكائنات الناقلة للفيروسات، والأمور التى يتعين الاهتمام بها فى هذا الشأن .. يراجع Maramorosch (1980).

وتعرف حالة تأثير العوامل غير الوراثية السابقة للإصابة على مدى القابلية للإصابة باسم predisposition، ويتحدد مدى هذا التأثير بكل من الكائن الممرض والعائل المعنيين، وبعمر العائل وقت التعرض لتلك العوامل، وهى التى لا تقتصر فقط على عمليات الخدمة الزراعية والعوامل البيئية بمختلف صورها، وإنما تتسع - أيضًا – لتتضمن الإصابة بالآفات الأخرى، وخاصة بالمسببات المرضية التى تؤثر - دائمًا - على فسيولوجى النبات المصاب؛ الأمر الذى يؤثر - بدوره - على مدى استعداد ذلك النبات للإصابة بالكائنات الممرضة الأخرى.

وعلى الرغم من أن المصطلح predisposition يعنى – لغويًّا – حالات التعرض لتلك العوامل المؤثرة على القابلية للإصابة – قبل حدوث مجرد الهجوم attack – من قبل الكائن الممرض، فإنه يتسع ليتضمن – كذلك – الحالات التى تؤثر فيها العوامل البيئية التى تستجد بعد بداية الإصابة على شدة تطور الأعراض المرضية، وكذلك الحالات التى تتواكب فيها الإصابة بأكثر من مسبب مرضى فى آن واحد (Bos & Parlevliet 1995).

كذلك تعرف نوعيات خاصة من المقاومة، كما يلى:

1 – المقاومة العمومية Generalized Resistance:

هى مقاومة عدد كبير من المسببات المرضية، أو مقاومة جميع السلالات المعروفة لواحد أو أكثر من المسببات المرضية. ومن أمثلة ذلك صنف التبغ T.I.245، الذى يعد مقاومًا لعشرة فيروسات، هى كما يلى:

- فيرس موزايك التبغ Tobacco Mosaic Virus.
- فيرس موزايك الخيار Cucumber Mosaic Virus.
- فيرس موزايك اللفت Turnip Mosaic Virus.
- فيرس إكس البطاطس Potato X Virus.
- فيرس تبقع الطماطم الحلقى Tomato Ringspot Virus.
- فيرس تبقع التبغ الحلقى Tobacco Ringspot Virus.
- فيرس تخطيط التبغ Tobacco Streak Virus.
- فيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus.

- فيرس **Severe Etch**.

- فيرس **Tomato Aspermy**.

وتختلف المقاومة العمومية عن مقاومة عديد من الأمراض Multiple Disease Resistance فى أن الأولى يتحكم فيها نظام وراثى واحد، بينما يحمل الصنف المقاوم - فى الحالة الثانية - عدة جينات للمقاومة، يتحكم كل واحد أو مجموعة منها فى مقاومة أحد الأمراض.

كان صنف التبغ T.I.245 ذو المقاومة العمومية قد انتخب من بين 400 سلالة من الجنس Nicotiana لاحتوائه على أعلى درجات المقاومة لفيرس موزايك الخيار. وعندما لقح Holmes هذا الصنف بصنف آخر لا يمت له بصلة قرابة .. ظهر أن بعض النباتات المنعزلة كانت على درجة عالية من المقاومة لفيرس موزايك التبغ. وقد لقح Holmes هذه النباتات ذاتيًّا، واستمر فى التربية والانتخاب على أساس المقاومة لفيرس موزايك التبغ، وفى نهاية الأمر تبين له أن السلالات المنتجة كانت مقاومة كذلك للفيروسات العشرة المشار إليها آنفًا.

وقد حصلت هذه السلالات على مقاومتها لهذه الفيروسات من الصنف T.I.245؛ الأمر الذى يعنى أن الانتخاب لمقاومة فيرس موزايك التبغ فقط كان فعالاً أيضًا كطريقة للانتخاب لمقاومة بقية الفيروسات؛ وهو ما يدل على أن المقاومة لجميع هذه الفيروسات يتحكم فيها نفس النظام الوراثى. ليس هذا فقط، بل أن مقاومة هذا الصنف لفيرس موزايك الخيار كانت ضد كل من الانتقال الميكانيكى والانتقال بواسطة المنّ.

وكما سبق أن أوضحنا .. فإن مقاومة النباتات للمسببات المرضية هى القاعدة، وأن القابلية للإصابة هى الاستثناء؛ فمثلاً .. برغم إصابة البطاطس بعشرات المسببات المرضية، فإنها لا تصاب بآلاف من المسببات المرضية الأخرى التى تصيب غيرها من النباتات، ويعنى ذلك أن البطاطس لابد أن يتوفر فيها وسائل دفاعية تحقق لها مقاومة عمومية ضد مختلف المسببات المرضية التى لا تصيبها؛ كالأصداء والتفحمات ... إلخ.

2 - مقاومة البادرة Seedling Resistance:

يعنى بذلك المقاومة التى تظهر على النبات فى جميع مراحل نموه ابتداء من طور البادرة؛ مقارنة بمقاومة النبات البالغ التى لا تظهر إلا فى المراحل المتأخرة من نموه. ويفضل أن تعرف مقاومة البادرة باسم المقاومة الشاملة Overall Resistance. ومن أمثلتها مقاومة سلالة الكرنب P.I.436606 للبكتيريا Xanthomonas campestris pv. campestris المسببة لمرض العفن الأسود (Dickson & Hunter 1987).

مصطلحات خاصة بالمقاومة المتخصصة والبسيطة

1 - المقاومة المتخصصة Specific Resistance:

يعنى بها المقاومة الرأسية، أو المقاومة الخاصة بسلالة معينة Race Specific Resistance.

2 - المقاومة الرأسية Vertical Resistance:

هى مقاومة بعض سلالات الطفيل، ويتحكم فيها جينات رئيسية Major genes، وهى مقاومة نوعية، بمعنى أنها إما أن تظهر بوضوح، أو لا تظهر. ويكون ظهورها واضحًا فى حالات فرط الحساسية، ولكن فرط الحساسية ليس شرطًا لظهور المقاومة الرأسية.

3 - جين المقاومة الرأسية فى العائل R-gene أو r-gene:

هو الجين المسئول عن المقاومة الرأسية.

4 - مقاومة جينات R، أو R-gene resistance:

هى ذاتها المقاومة الرأسية.

5 - المقاومة البسيطة Monogenic resistance:

هى المقاومة التى يتحكم فى وراثتها عامل وراثى واحد، ويمكن – غالبًا – التعرف على الكروموسوم الحامل لهذا الجين، وتحديد موقع الجين عليه.

6 - مقاومة الجين الرئيسى Major Gene Resistance:

يستخدم هذا المصطلح فى وصف أى نوع من المقاومة يتحكم فى وراثتها جين واحد رئيسى، وهو يستعمل أحيانًا بمعنى المقاومة الرأسية، ولكن ذلك استعمال خاطئ للمصطلح، لأن المقاومة الأفقية قد يتحكم فيها أيضًا جين واحد رئيسى.

7 - مقاومة رأسية معقدة Complex Vertieal Resistance:

هى مقاومـــة رأسية تتميز بوجـود عـــدد كبير نسبيًّا من جينات المقاومة الرأسية R-genes.

8 - المقاومة النوعية Qualitative Resistance

يستخدم هذا المصطلح – أحيانًا – بمعنى المقاومة الرأسية، ولكن هذا الاستعمال خاطئ، لأن المقاومة الرأسية قد تكون كمية أيضًا.

9 - المقاومة التى يتحكم فيها عدد قليل من الجينات Oligogenic Resistance:

هى المقاومة التى يتحكم فى وراثتها عدد قليل من الجينات، لا يتعدى زوجين أو ثلاثة أزواج من الجينات فى معظم الحالات، وبذا .. فهى تتضمن حالات مقاومة الجين الرئيسى Major Gene Resistauce، التى يتحكم فى وراثتها جين واحد. وتتميز المقاومة الـ Oligogenic بظهور انعزالات واضحة للجينات المسئولة عن المقاومة فى الأجيال الانعزالية.

10 - المقاومة غير المتجانسة nonuniform resistance:

نجد فى حالات المقاومة غير المتجانسة أن العائل يمنع سلالات معينة من المسبب المرضى - دون غيرها - من إصابته.

مصطلحات خاصة بالمقاومة غير المتخصصة والكمية

1 - المقاومة الأفقية Horizontal Resistance:

يعنى بالمقاومة الأفقية مقاومة العائل – التى تكون بنفس المستوى – ضد جميع سلالات الطفيل. وقد أطلق على المقاومة الأفقية ضد الفطر Phytophthora infestans اسم مقاومة الحقل، كما أطلق على المقاومة الأفقية للقمح ضد فطر Puccinia graminis tritici اسم المقاومة العمومية Generalized Resistance، وكلا الاستخدامين خاطئ.

إن المقاومة الأفقية ترجع إلى أسباب مختلفة، وقد تكون سلبية أو نشطة، وقد تكون بسيطة أو كمية، إلا أن الكمية منها أكثر شيوعًا من البسيطة.

وتتميز حالات المقاومة الأفقية بتناقص أعداد جراثيم الطفيل أو أجسامه الخضرية التى يمكنها إحداث الإصابة، وبطء حدوث الإصابة، وبط تكاثر المسبب المرضى داخل النبات؛ الأمر الذى يؤدى إلى بطء ظهور الوباء.

نجد فى حالات المقاومة الأفقية أن التباينات فى مقاومة العائل ترجع – أساسًا – إلى اختلافات فى كل من شدة المقاومة الأفقية للعائل وشدة الضراوة الكمية للمسبب المرضى، وليس إلى تفاعلات معينة بين الأصناف والسلالات.

وتتوفر عدة أدلة على شيوع المقاومة الأفقية فى جميع النباتات ضد كل الأمراض، إلا أنه يصعب التعرف عليها فى برامج التربية، وهو ما أدى إلى إهمالها كثيراً فى الماضى.

2 - مقاومة الحقل Field Resistance:

يستعمل مصطلح مقاومة الحقل فى وصف حالات المقاومة التى تظهر تحت ظروف الحقل، وتبطئ تطور المرض إلى الصورة الوبائية، ولكنها لا تظهر بسهولة فى اختبارات الصوبة، أو المعمل. ويستخدم هذا المصطلح - أحيانًا - لوصف حالات المقاومة الأفقية، إلا أن هذا استخدام خاطئ. ولا يعرف - عادة - الأساس الوراثى أو الفسيولوجى لتلك المقاومة، وهى غالبًا مقاومة غير متخصصة، وكثيراً ما تكون ثابتة.

3 - مقاومة النباتات البالغة Mature Plant Resistance:

يقصد بذلك المقاومة التى تظهر فى النباتات التامة النمو فقط، بينما تكون البادرات قابلة للإصابة. وتورث هذه المقاومة كميًّا غالبًا، وهى لا تتأثر كثيراً بالظروف البيئية.

4 - المقاومة غير المتخصصة Nonspecific Resistance:

فى حالات المقاومة غير المتخصصة لا تقتصر المقاومة على سلالات خاصة محددة من المسبب المرضى.

5 - المقاومة المتجانسة Uniform Resistance:

يصف مصطلح المقاومة المتجانسة الحالات التى تكون فيها مقاومة العائل متماثلة ضد كل سلالات المسبب المرضى.

6 - المقاومة العامة General Resistance:

استخدم Thurston (1971) مصطلح المقاومة العامة بمعنى المقاومة الأفقية (أى قدرة العائل على مقاومة جميع سلالات المسبب المرضى)، كما ذكر عديدًا من المصطلحات التى استخدامها الكثيرون كمرادفات له، وهى كما يلى (علمًا بأنه يتعين التعامل معها بحذر على ضوء المناقشات السابقة):

- مقاومة الحقل Field Resistance.

- المقاومة الجزئية Partial Resistance.

- عدم الخصوصية Nonspecificity.

- المقاومة بغير فرط الحساسية Nonhypersensotive Resistance.

- مقاومة فيتوفثورا النسبية Relative Phytopthora Resistance.

- المقاومة غير الخاصة (بسلالة معينة) Nonspecific Resistance.

- المقاومة التى لا تختص بسلالة معينة Nonrace-specific Resistance.

- المقاومة العمومية Generalized Resistance.

- المقاومة العديدة الجينات Multigenic Resistance.

- المقاومة العديدة الجينات Polygenic Resistance.

- مقاومة الجينات الثانوية Minor Gene Resistance.

- المقاومة العديدة الجينات Multiple Gene Resistance.

- المقاومة العديدة الآليلات Multiple Allele Resistance.

- المقاومة التى تورث كميًّا Quantitatively Inherited Resistance.

7 - مقاومة الجين الثانوى Minor Gene Resistance:

يستخدم هذا المصطلح لوصف حالات المقاومة التى يتحكم فيها جينات ثانوية، يكون لكل منها تأثير محدود.

8 - المقاومة العديدة الجينات **Polygenic Resistance:**

يتبين من المصطلح أن هذه المقاومة يتحكم فيها عدد كبير من الجينات، يكون لكل منها تأثير محدود على ظهور صفة المقاومة. ومن الخطأ استخدام هذا المصطلح عند الإشارة إلى المقاومة الأفقية التى قد يتحكم فيها – أحيانًا – جينات رئيسية.

9 - المقاومة الكمية **Quantitative Resistance:**

هى المقاومة التى يتحكم فى وراثتها عدد كبير من العوامل الوراثية، وقد يكون العدد كبيرًا إلى درجة يصعب معها تحديده بدقة. وتختلف النباتات - فى الأجيال الانعزالية - فى درجات المقاومة، وتكون هذه الاختلافات تدريجية، ولا يكون لأى جين تأثير محدد يمكن من خلاله تتبع هذا الجين فى الأجيال التالية.

ويستعمل البعض المصطلح **Multigenic Resistance** لوصف المقاومة الكمية، وهذا الاستعمال خاطئ لأن الكلمة البادئة **Multi** لاتينية، بينما الكلمات البادئة **mono**، و **di**، و **oligo** يونانية.

ويستخدم مصطلح المقاومة الكمية - أحيانًا - بمعنى المقاومة الأفقية، ولكن هذا الاستعمال خاطئ، لأن المقاومة الأفقية قد يتحكم فيها جينات رئيسية **Major Genes.**

10 - المقاومة المستمرة الإختلافات Continuously Variable Resistance:

وضع Van der Plank (1982) هذا المصطلح ، ويعنى به المقاومة الكمية، وأشار إلى تفضيله استخدام هذا المصطلح الذى يصف حالة المقاومة الكمية بدقة، حيث تقاس الاختلافات المشاهدة فى المقاومة أو شدة الإصابة، ولا تقسم النباتات إلى فئات.

ويرى Van der Plank عدم استخدام مصطلح مقاومة الجينات الثانوية Minor Gene Resistance لوصف حالة المقاومة الكمية، لأنه قد يتحكم فيها جينات قليلة ذات تأثيرات رئيسية.

مصطلحات خاصة بسلالات وطرز المسبب المرضى

العَزْلَة isolate هى مزرعة المسبب المرضى التى تنتج من جرثومة واحدة، أو مستعمرة بكتيرية واحدة، أو بقعة محلية فيروسية واحدة، أو من نقلة واحدة بواسطة أحد ناقلات الفيروسات؛ وبذا .. فإن مصطلح العزلة يفيد وجود درجة عالية من النقاوة.

وتعرف الـ forma specialis بأنها تقسيم تحت النوع لمسبب مرضى أو كائن دقيق يميز أساسًا بتأقلمه على عائل معين، ويكون تمييزه على أساس فسيولوجى (القدرة على التأقلم على العائل)، وليس على أى أساس مورفولوجى.

ويعد المصطلح pathovar معادلاً - فى المسببات المرضية البكتيرية - لمصطلح الـ forma specialis فى المسببات المرضية الفطرية.

أما مصطلح الطراز البيولوجى biotype فيعنى به أى تباين بيولوجى تحت النوع، ولا توجد حدود فاصلة تميزه عن أى من المصطلحين forma specialis، و pathovar. ولا يفضل استخدام هذا المصطلح للدلالة على أى شئ محدد أكثر من الإشارة إلى مجموعة من الأفراد التى تنتمى إلى طراز بيولوجى معين ويمكن تمييزها بيولوجيًا، ولا تقع تحت أى قواعد تقسيمية معينة (عن Bos & Parlevliet 1995).

أما السلالة race - وعلى الأخص السلالة الفسيولوجية physiologic race – فهى مجموعة من أفراد الطفيل (فطريات غالبًا) - تتميز بتخصصها على أصناف معينة من عائلها.

ويشير المصطلح طراز باثولوجى pathotype إلى تقسيم تحت النوع يتميز بصفات خاصة به فيما يتعلق بالقدرة على إحداث الإصابة، وبالذات فى مدى العوائل.

ويستخدم المصطلح سلالة strain بالنسبة للفيروسات بالمفهوم ذاته الذى يستخدم فيه المصطلح pathotype بالنسبة للمسببات المرضية الفطرية والبكتيرية، إلاّ أن المفهوم الأوسع للمصطلح strain يُعنى به كل أنواع التباينات التى يمكن تمييزها، بما فى ذلك فى الفيروسات. كذلك يُستخدم مصطلح strain فى الفيروسات مرادفًا لمصطلح serotype، وهو الطراز السيرولوجى.

أما الطرز الفسيولوجى physiotype فإنه يصف عشيرة من المسبب المرضى تتشابه جميع أفرادها فى صفاتها الفسيولوجية (عن Bos & Parlevliet 1995).

وفى مجال النيماتودا .. تستخدم بعض التقسيمات التى تقع تحت النوع الواحد كما يلى:

1 – السلالة race، وقد استخدمت فى تحديد الاختلافات التى توجد بين عشائر نيماتودا حوصلات فول الصويا Heterodera glycines.

2 – الطرز الباثولوجى pathotype، وقد استخدم فى تحديد الاختلافات التى توجد بين عشائر نيماتودا حوصلات البطاطس Globodera pallida، و G. rostochiensis.

3 – الطراز البيولوجى biotype، وقد استخدم فى تحديد الاختلافات التى توجد بين عشائر نيماتودا الساق والأبصال Ditylenchus dipsaci.

هذا .. وبينما يتم التمييز بين السلالات - أحيانًا - بمدى العوائل، كما فى حالة سلالات نيماتودا تعقد الجذور، فإن الطرز الباثولوجية يُعتمد فى تمييزها على جينات المقاومة التى توجد فى مختلف الأصناف وسلالات التربية والأنواع القريبة، كما فى حالة نيماتودا حوصلات البطاطس (عن Roberts 2002).

مصطلحات خاصة بتدهور المقاومة، والضراوة النوعية والكمية وأنواع التفاعلات بين العائل والمسبب المرضى

1 – الضراوة النوعية Virulence:

يعنى بمصطلح الضراوة - غالبًا - التطفل الرأسى Vertical Pathogenicity - أى القدرة على إحداث الإصابة، والقدرة على كسر المقاومة الرأسية - مقابل المصطلح Aggressiveness، الذى يعنى به - غالبًا - التطفل الأفقى Horizontal Pathogenicity أى المستوى الكمى للقدرة على إحداث الإصابة.

وبينما لا تتفاعل سلالات الطفيل التى تختلف فى درجة ضراوتها Aggressiveness مع أصناف العائل التى تختلف فى مستوى مقاومتها الأفقية، فإن سلالات الطفيل التى تختلف فى درجة ضراوتها Virulence تتفاعل مع أصناف العائل التى تختلف فى مقاومتها الرأسية. ويتوقف عدد سلالات الطفيل التى يمكن تمييزها من هذا الطراز على عدد جينات المقاومة المتوفرة فى العائل.

ومن الاستعمالات الأخرى لمشتقات المصطلح Virulence وصف المسبب المرضى بأنه Virulent حينما يكون ذا قدرة عالية على إحداث الإصابة Strongly Pathogenic. كما يستعمل علماء البكتريولوجى المصطلحين Virulent، و Avirulent بمعنى قادر على إحداث الإصابة Pathogenic، وغير قادر على إحداثها Non-Pathogenic على التوالى.

2 - جينات الضراوة V-genes، أو v-genes:

هى الجينات المسئولة عن الضراوة الرأسية لسلالات الطفيل.

3 - الجينات المقابلة Matching Genes:

يستخدم هذا المصطلح للدلالة على جينات الضراوة الرأسية V-genes فى الطفيل التى تقابل جينات المقاومة R-genes فى العائل، والتى تمكن الطفيل من كسر مقاومة العائل.

4 - طراز طفيلى ذو ضراوة رأسية معقدة Complex Vertical Pathotype:

يستخدم هذا المصطلح لوصف الطرز الطفيلية ذات الضراوة الرأسية التى توجد بها أعداد كبيرة نسبيًّا من جينات الضراوة V-genes.

5 - كسر المقاومة Breakdown of Resistance:

يستخدم هذا المصطلح للدلالة على الحالات التى تفقد فيها المقاومة الرأسية، عند ظهور وانتشار سلالات فسيولوجية جديدة قادرة على التغلب على هذه المقاومة. ويتضح من هذا التعريف أن المقاومة ذاتها لم تفقد، ولم تتغير، وإنما الذى تغير هو الطفيل.

6 - العوائل المفرقة Differential Hosts:

يستخدم مصطلح عوائل مفرقة لوصف مجموعة من الأصناف التى تحمل كل منها عاملاً وراثيًّا معينًا للمقاومة الرأسية، وتستخدم للتفريق، أو التمييز بين السلالات الفسيولوجية المختلفة للطفيل التى تحمل كل منها عاملاً وراثيًّا معينًا للضراوة Vertical Pathotype، إلا أن المصطلح ذاته يستخدم فى الفيرولوجى – وأحيانًا فى بعض الفروع الأخرى لأمراض النبات – للتمييز بين مسببات مرضية مختلفة كلية. وفى حالات كهذه .. قد تنتمى العوائل المفرقة لأنواع، أو أجناس، أو عائلات نباتية مختلفة.

7 - عشيرة من العائل ذات طراز معين للمقاومة Pathodeme:

يوجد - على سبيل المثال - Vertical Pathodeme، و Horizontal Pathodeme، و Oligogenic Pathodeme ... إلخ.

8 - درجة الضراوة أو الضراوة الكمية Agressiveness:

تعبر درجة الضراوة عن المستوى الكمى للضراوة، وقد وضع Van der Plank هذا المصطلح ليدل على التطفل الأفقى Horizontal Pathogenicity، على غرار المقاومة الأفقية. ويوجد من كل مسبب مرضى عدد لا نهائى من السلالات التى تختلف فى درجة ضراوتها، ويكون اختلاف ضراوتها بنفس الدرجة النسبية على الأصناف المختلفة، وبذا .. لا يمكن تمييزها باستخدام أصناف مفرقة. ويهتم المربى باختيار السلالات العالية الضراوة عند إجراء اختبارات تقييم المقاومة.

9 - فقدان المقاومة الأفقية Erosion:

يكون فقد المقاومة الأفقية تدريجيًّا وعلى مدى فترة زمنية طويلة، على خلاف فقد المقاومة الرأسية (Breakdown) الذى يكون فجائيًّا وبصورة درامية. كذلك فإن الذى يتغير فى حالة فقدان المقاومة الأفقية هو العائل، على خلاف فقدان المقاومة الرأسية التى يتغير فيها الطفيل.

10 - تأثير فيرتيفوليا Vertifolia Effect:

يستخدم هذا المصطلح لوصف الحالات التى تفقد فيها المقاومة الأفقية عند تربية الأصناف الجديدة، بسبب توجيه المربى جل اهتمامه إلى المقاومة الرأسية أثناء الانتخاب للمقاومة. وينسب هذا المصطلح إلى صنف البطاطس Vertifolia ذى المقاومة الرأسية للندوة المتأخرة.

يحتوى هذا الصنف على جينين لمقاومة الندوة المتأخرة، هما: R3، و R4، وعندما ظهرت السلالة (3,4) من الفطر المسبب للمرض أصبح هذا الصنف قابلاً للإصابة بالمرض بصورة تامة؛ الأمر الذى دلَّ على الانخفاض الشديد لمستوى المقاومة الأفقية فيه. وقد أطلق Van der Plank على هذه الظاهرة (ظاهرة الفشل التام للصنف فى مقاومة المسبب المرضى بعد ظهور السلالات الفسيولوجية القادرة على التغلب على مقاومته الرأسية) اسم تأثير فيرتيفوليا Vertifolia effect.

إن مصطلح الضراوة aggressiveness (أو aggressivity) يعنى به ما إذا كان المسبب المرضى قادر على إصابة النبات، أم غير قادر؛ فهو يدل على مدى قدرة الطفيل على الهجوم على النبات، بهدف تكوين علاقة تطفلية معه، تنتهى بإصابته بذلك الطفيل. هذا وتقاس الضراوة كميًّا بمدى شدة الإصابة التى يمكن أن تحدثها عشيرة الطفيل فى عشيرة من العائل.

أما مصطلح الـ virulence فيعنى به مدى قدرة المسبب المرضى على إحداث أعراض المرض؛ فهو يدل على مدى شدة الأعراض التى يمكن أن يسببها المسبب المرضى فى العائل. وبدون الـ virulence فإن الطفيل parasite لا يكون مسببًا مرضيًّا pathogen؛ فهى التى تحول الطفيل إلى مسبب مرضى.

وقد يكون أحد المتطفلات (نوع أو تحت نوع أو طراز بيولوجى ... إلخ) على درجة عالية من الـ virulence على تركيب وراثى معين من العائل، بينما قد يكون على درجة منخفضة من الـ virulence، أو حتى nonvirulent على تركيب وراثى آخر. ولذا .. فإنه من السهل أن يختلط مفهوم الـ virulence مع مفهوم الاختلافات فى شدة الحساسية للإصابة بين مجموعة من التراكيب الوراثية للعائل. ولفصل وتمييز الـ virulence الخاصة بمسبب مرضى معين عن تأثير حساسية العائل، يجب تقدير شدة الأعراض المرضية على مدى من التراكيب الوراثية للعائل باستخدام تركيزات مختلفة من لقاح المسبب المرضى.

ويحدِّد مصطلح pathogenicity القدرة الكمية على إحداث المرض، وعند تقديرها يؤخذ فى الاعتبار مدى الضراوة الكمية aggressiveness أو النوعية virulence للمسبب المرضى، ويتم تقديرها بقياس قدرة الطفيل الذى ينمو ويتكاثر على العائل، وبشدة الأعراض التى تظهر على مجموعة من التراكيب الوراثية للعائل عند استعمال تركيزات مختلفة من لقاح المسبب المرضى.

وتجدر الإشارة إلى أن مصطلح pathogenicity يستخدم – كذلك – فى الحالات التى لا توجد فيها أية علاقة بيولوجية بين الكائن الممرض والنبات المصاب، كما فى حالات الـ allelopathy (عن Bos & Parlevliet 1995). هذا .. ويعطى Shaner وآخرون (1992) مزيدًا من التفاصيل عن المصطلحات الخاصة بالقدرة على إحداث الإصابة، والضراوة كما تستخدم فى مجال أمراض النبات.

إن مجاميع المصطلحات الثلاث (القابلية للإصابة مقابل المقاومة والحساسية مقابل القدرة على التحمل، والاستعداد الشديد للإصابة مقابل الاستعداد المنخفض) هى علاقات عكسية يعنى بها مستويات مختلفة من نفس الأمر؛ مثلاً .. كلما زادت القابلية للإصابة انخفضت المقاومة؛ فهى كلمات متناقضة المعنى.

لقد عُرِّفت القابلية للإصابة susceptibility بأنها عدم قدرة النبات على مواجهة تأثيرات أى عامل ضار أو مسبب مرضى، أو هى عدم القدرة على الدفاع أمام اجتياح مسبب مرضى ما أو فيرس له. ويمكن القول أن القابلية للإصابة تتضمن كل حالات عدم المناعة، على الرغم من أنها ترتبط فى الذهن – غالبًا – بشدة ظهور الأعراض.

أما المقاومة resistance فقد عُرِّفت بأنها قدرة العائل على إعاقة نمو ونشاط الطفيل أو المسبب المرضى، وإعاقة تكاثر الفيرس، أو هى قدرة النبات على تحييد عامل كيميائى ضار يتكون عقب بدء الإصابة.

وتعرف الحساسية sensitivity بأنها صفات النبات التى تجعله يتفاعل مع المسبب المرضى أو العامل البيئى بطريقة تؤدى إلى زيادة شدة الأعراض المرضية الناتجة عن الإصابة، بما فى ذلك النقص فى المحصول. وإذا لم يستجب النبات لاجتياح المسبب المرضى له أو لتعرضه للعامل البيئى الضار فإن هذا يقود إلى حالة إصابة غير ظاهرة latent infection، أو إلى حدوث أضرار ميكانيكية mechanical injury، ولا يعد النبات – حينئذٍ – حساسًا.

أما فرط الحساسية hypersensitivity (وهى نوع من المقاومة) فهى الاستجابة العنيفة لهجوم المسبب المرضى أو الفيرس بطريقة تؤدى على الموت الفورى للنسيج الذى تم اجتياحه؛ مما يمنع استمرار تقدم الإصابة (عن Bos & Parlevliet 1995).

مصطلحات خاصة بثبات المقاومة

1 - المقاومة التى تتحمل البقاء لفترات طويلة Durable Resistance (أو المقاومة المستدامة):

يعنى بذلك المقاومة التى يمكن أن تبقى ما بقى الصنف فى الزراعة التجارية، أى إلى أن تحل محله أصناف أخرى تتفوق عليه فى المحصول وصفات الجودة. وهى - بذلك - تعبر عن هدف للمربى، ولا تصف نوعًا من المقاومة يمكن تحديده على أسس وراثية أو فسيولوجية.

2 - المقاومة المتبقية Ghost Resistance:

إن الترجمة الحرفية للمصطلح الإنجليزى هو "مقاومة الشبح"، ويعنى بها المقاومة التى تتبقى فى الصنف بعد كسر مقاومته الرأسية، والتى ترجع إلى ما يحمله هذا الصنف من مقاومة أفقية.

3 - الصنف المتعدد السلالات Multiline Variety:

يتكون الصنف المتعدد السلالات من عديد من السلالات تحتوى كل منها على جين مختلف للمقاومة الرأسية. ولهذه الأصناف أهمية كبيرة فى مقاومة الأمراض التى تحدثها الطفيليات الإجبارية التطفل، والتى تسبب أمراضًا تنتشر أوبئتها بطريقة "الربح المركب" Compound Interest Diseases (Robinson 1969، و Federation of British Plant Pathologists 1973، و Van der Plank 1984، و Bos & Parlevliet 1995).

الفصل الرابع

السلالات الفسيولوجية لمسببات الأمراض ونظرية الجين للجين

مقدمة

كان Eriksson - عام 1894 - هو أول من أوضح أن الأنواع الفطرية تحتوى على سلالات تختلف فى تطفلها، أى فى قدرتها على إحداث المرض؛ فقد وجد أن فطر الصدأ الأسود Puccinia graminis المعزول من نباتات القمح المصابة لم يمكنه إصابة الشوفان، والشيلم، وبعض النجيليات الأخرى. وتبين أن العزلات التى أخذت من مدى من العوائل كانت قادرة على إصابة عوائل معينة دون غيرها. وقد حدى ذلك بـ Eriksson إلى تقسيم النوع P. graminis إلى عدة تحت أنواع Subspecies.

وقد تبين بعد ذلك أن أنواع وتحت أنواع الفطريات تختلف فى قدرتها على إصابة أصناف وسلالات العائل الواحد. وكان Barrus عام 1911 هو أول من أوضح ذلك بتمييزه لسلالتين (ألفا، وبيتا) من الفطر Colletotrichum lindemuthianum (المسبب لمرض الأنثراكتوز) اختلفتا فى قدرتيهما على إصابة أصناف الفاصوليا.

وأعقب ذلك - فى عام 1917 - اكتشاف Stakman وجود عدد كبير من السلالات الفسيولوجية ضمن كل من تحت أنواع P. graminis التى حددها Eriksson، وأن المقاومة للفطر Puccinia graminis f. sp. tritici - المسبب لمرض صدأ الساق فى القمح - يمكن التغلب عليها بواسطة تباينات variants من الفطر. وفى بداية الأمر ساد الاعتقاد بأن تلك الحالة كانت استثناء وليست قاعدة، إلاّ أن تباينات (سلالات) أخرى جديدة مماثلة، قادرة على التغلب على مقاومة الأصناف الجديدة المنتجة من مختلف محاصيل الحبوب سريعًا ما اكتشفت وتبين أنه كلما كانت الأصناف الجديدة المقاومة أكثر انتشارًا فى الزراعة كلما ازداد الضغط على المسبب المرضى على تكوين سلالات جديدة، وكلما قصرت - بالتالى - الفترة التى تطلبتها ظهور تلك السلالات.

وقد أعقب ذلك نشر دراسات كلا من Oort فى هولندا على المقاومة للفطر Ustilago tritici فى القمح فى عام 1944، ودراسات Flor على المقاومة للفطر Melampsora lini فى الكتان فى الفترة من 1942 إلى 1946، وهى التى أدت - خاصة دراسات Flor التى نالت جل اهتمام الباحثين - إلى تطوير نظرية الجين للجين.

اقترح Stakman مصطلح سلالة فسيولوجية physiological race فى عام 1917، وهو المصطلح الذى لاقى قبولاً واسعًا واخْتُصِرَ إلى سلالة race (عن de Wit 1992).

وتُعرَّف السلالات الفسيولوجية Physiological Races بأنها مجاميع من الفطريات أو البكتيريا تنتمى إلى نفس النوع، وتتشابه مورفولوجيًّا، ولكنها تتميز بتباين قدراتها على إحداث الإصابة فى أصناف النوع النباتى (العائل) الواحد (عن Dixon 1984).

إن طفرات المسببات المرضية التى تكون قادرة على إصابة الأصناف الحاملة لجينات معينة من جينات المقاومة الرأسية تتولد وتتواجد - بصورة طبيعية - على جميع النباتات سواء أكانت حاملة لتلك الجينات، أم غير حاملة لها، ولكنها تظل مختفية إن كان تواجدها فى حقول غير مقاومة لها، وتظهر - ويمكن ملاحظتها - إن وجدت هذه الطفرات أو نسلها على صنف مقاوم لها. ولذا .. فإن معدل العثور على طفرات كهذه فى الطبيعة يكون منخفضًا بالنسبة لمعدل ظهورها تحت ظروف المختبر.

ومن وجهة نظر الطفيل .. فإن الطفرات الطبيعية التى تؤدى إلى زيادة الضراوة تعنى فاقدًا له؛ لأن ظهورها على الأصناف غير القابلة للإصابة يعنى ضعفًا فى قدرتها على البقاء على تلك الأصناف.

وعمومًا .. فإن جينات المقاومة الرأسية التى تكون السلالات القادرة على التغلب عليها متواجدة من قبل إدخال هذه الجينات فى أصناف تجارية هى جينات ضعيفة، ومن أمثلتها الجينات: R4، و R5، و R11 الخاصة بمقاومة الندوة المتأخرة فى البطاطس (Van der Plank 1982).

نشأة السلالات الفسيولوجية

تحتوى السلالات الفسيولوجية الجديدة على جينات جديدة للضراوة تكون قادرة على كسر جينات المقاومة التى تتوفر فى الأصناف التجارية المزروعة. إلا أن أية سلالة جديدة قد تكون - فى واقع الأمر - خليطًا من عديد من التباينات الوراثية للمسبب المرضى؛ فيما يتعلق بالصفات المورفولوجية، والفسيولوجية، وربما كذلك فى صفات الضراوة الخاصة بعوائل أخرى تحتوى على جينات أخرى للمقاومة .. إلا أنها تشترك جميعًا فى جين الضراوة المسئول عن كسر مقاومة جين المقاومة فى العائل.

ونتناول - فيما يلى - كيفية نشأة السلالات الفسيولوجية فى مختلف المسببات المرضية.

أولاً: الفطريات

تنشأ السلالات الفسيولوجية الجديدة من الفطريات بالوسائل التالية:

1 - الطفرات الجسمية:

تعد الطفرات الجسمية Somatic Mutations أكثر الطرق التى تظهر بها السلالات الفسيولوجية الجديدة فى الفطريات، ذلك لأن احتمال حدوث طفرة فى الجين المسئول عن الضراوة هو احتمال كبير - مهما انخفضت نسبة حدوثه - بالقياس بالأعداد الفلكية لخلايا الفطر - التى يمكن أن تحدث فيها الطفرة - فى أية منطقة جغرافية. وتتوقف قدرة أى طفرة من هذا القبيل - على البقاء - على مدى تأثير هذه الطفرة على العمليات الأيضية الطبيعية للفطر، وعلى قدرة السلالة الحاملة لها على منافسة السلالات الأخرى؛ الأمر الذى يتوقف على مدى التوافق - أو عدم التوافق - بين كل منها والأصناف المنتشرة فى الزراعة. وجدير بالذكر أن طفرات الضراوة تتراكم واحدة تلو الأخرى فى نفس العزلة الفطرية؛ مما يؤدى إلى ظهور سلالات معقدة Complex Races.

تختلف نسبة حدوث الطفرات باختلاف الفطريات وباختلاف الجينات نفسها (كما فى النباتات الراقية). كما تختلف الطفرات فى أشكالها المورفولوجية، وفى نموها، وضراوتها، وشدة إحداثها للإصابة aggressiveness. وقد تمكن Flor من إنتاج طفرات من الفطر Melampsora lini المسبب لمرض صدأ الكتان بتعريض جراثيم الفطر اليوريدية لأشعة X، أو للأشعة فوق البنفسجية.

وإذا حدثت الطفرة فى طور ثنائى التضاعف (2ن)، أو ثنائى النواة dicaryotic (ن+ن) فإنها لا تظهر إلا إذا كانت سائدة. ولذا .. تبقى طفرات الزيادة فى الضراوة مستترة؛ لأن معظمها متنح، إلا فى الحالات التالية:

أ - عندما تحدث نفس الطفرة فى النواة الأخرى بالـ dicaryon، وذلك احتمال ضئيل للغاية.

ب - بعد مرور الفطر خلال مراحل التكاثر الجنسى واتحاد نواتين بهما نفس العامل المتنحى معًا.

جـ - عندما تجتمع نواتان بهما نفس الطفرة فى dicaryon جديد.

وفيما يتعلق بأعداد الطفرات التى يمكن ظهورها فى أى حقل .. فهى كثيرة للغاية، ويتضح ذلك من المثالين التاليين:

أ - الفطر Erysiphe graminis hordei المسبب لمرض البياض الدقيقى فى الشعير:

يُقدَّر عدد البقع المرضية بنحو 910 بقعة/هكتار، تنتج كل منها 410 جرثومة كونيدية يوميًّا. فإذا كانت المساحة المزروعة بالشعير (فى الولايات المتحدة فى عام 1975) 3.5 × 610 هكتارًا، وكان معدل حدوث الطفرات 10-7 .. فإن ذلك يعنى أن الفطر ينتج 3.5 × 1210 طفرة يوميًّا (فى الولايات المتحدة)، و 3.5 × 510 طفرة مزدوجة.

ب - الفطر Puccinia recondita فى القمح:

إذا كانت 1% من المساحة الورقية للقمح مغطاة ببثرات يوريدية ناضجة تنتج كل منها 300 جرثومة من كل ملليمتر مربع يوميًّا .. فإن عدد الجراثيم اليوريدية التى تنتج يوميًّا بكل هكتار يصبح 1110 جرثومة. فإذا كان معدل حدوث الطفرات لموقع جينى معين هو واحد فى المليون .. فإن ذلك يعنى ظهور 100 ألف طفرة يوميًّا فى كل هكتار من القمح (عن Van der Plank 1982).

2 - التكاثر الجنسى والانعزالات الوراثية

لا يعد التكاثر الجنسى ضروريًّا فى الفطريات لكى تظهر سلالات فسيولوجية جديدة، ولكنه يعمل - فى حالة وجوده - على ظهور انعزالات جديدة للجينات عند الانقسام الاختزالى من خلال التوزيع الاعتباطى للكروموسومات، والعبور الكروموسومى. ومع أن ذلك لا يؤدى إلى ظهور جينات جديدة للضراوة، إلا أنه يسمح بتكوين طرز جديدة من المسبب المرضى تحتوى على توافيق جديدة من جينات الضراوة، والجينات التى تجعلها أكثر قدرة على البقاء.

يحدث التكاثر الجنسى فى كل الفطريات فيما عدا تلك التى تنتمى إلى الفطريات الناقصة Fungi Imperfecti. يحدث التكاثر الجنسى باندماج خليتين أحاديتين متميزتين جنسيًّا أو غير متميزتين، ليتكون تركيب ثنائى النواة dicaryon. وتتراوح فترة بقاء الـ dicaryon من فترة قصيرة جدًّا (كما فى الفطريات الطحلبية Phycomycetes والطرز البدائية من الفطريات الأسكية Ascomycetes) إلى فترة تمتد بطول دورة حياة الفطر باستثناء مدة قصيرة يستغرقها كل من الجيلين الأحادى haploid والثنائى diploid المجموعة الكروموسومية (كما فى التفحمات).

تندمج نواتا الـ dicaryon فى نهاية الأمر ليتكون منهما نواة ثنائية المجموعة الكروموسومية، وهى التى تمر بانقسام اختزالى (ميوزى) لتكوين أربع أنوية أحادية. وقد تنقسم الأنوية الأحادية ميتوزيًّا أو لا تنقسم قبل أن تنتج جراثيم جنسية أحادية، وهى التى تُعطى حين إنباتها الطور الأحادى من دورة الحياة.

قد تنتمى الخليتان اللتان تندمجان لتكوين الـ dicaryon إلى نفس الغزل الفطرى، كما فى الفطريات الـ homothallic، ولكن يتحتم فى فطريات أخرى - الـ heterothallic - أن تنتمى الخلايا المندمجة إلى طرازين تزاوجيين مختلفين، ومن ثم إلى غَزَلْين فطريين مختلفين. ويعرف طرازين تزاوجيين، هما: +، و - يتحكم فيهما جين واحد ذو آليلين، هما: mt+، و mt-، ولكن تعرف حالات يتحكم فى وراثتها جينين أو أكثر. هذا .. ولا توجد علاقة تربط بين الطراز التزاوجى والتميز الجنسى؛ فالأخير يتحكم فيه جينات أخرى، ويمكن لطراز تزاوجى معين إنتاج جاميطات مذكرة وأخرى مؤنثة، لكن الاندماج يحدث فقط بين جاميطات أنتجتها طرز تزاوجية مختلفة. وبعبارة أخرى فإن الطراز التزاوجى فى الفطريات لا يعد تميزًا جنسيًّا، ولكنه يتشابه مع نظام عدم التوافق الذاتى فى النباتات الراقية. وبذا .. فإن الـ heterothallism يحتم حدوث التزاوج بين نوايا غير متماثلة وراثيًّا لإنتاج الـ dicaryon. وعلى الرغم من أن الأنوية المتزاوجة معًا فى حالة الـ homathallism قد تختلف وراثيًّا كذلك، فإن الـ heterothallism يعد أكثر كفاءة فى إنتاج التباينات الوراثية عن الـ homothallism.

3 - حالة تعدد الأنوية المختلفة وراثيًّا

قد يوجد بالفطر الواحد من 1-3 حالات لأعداد الهيئات الكروموسومية، حسب نوع الفطر، وهذه الحالات هى:

أ - الحالة الأحادية **Haploid** (ن):

توجد الحالة الأحادية للكروموسومات فى خلايا عديدة من الفطريات، وفى أنواع كثيرة من الجراثيم، مثل الجراثيم الكونيدية.

ب - الحالة الثنائية **Diploid** (2 ن):

توجد الحالة الثنائية بعد تزاوج نواتين أحاديتين. ويطلق على اتحاد خليتين جنسيتين - تحتوى كل منهما على نواة واحدة أو أكثر - اسم **Plasmogamy**، كما يطلق على عملية اتحاد النوايا اسم **Caryogamy**. ويتطلب الرجوع إلى الحالة الأحادية عملية الانقسام الاختزالى.

جـ - حالة تعدد الأنوية **Karyotic** (ن + ن):

يطلق على الحالة التى توجد فيها نواتان أحاديتان غير مندمجتين فى نفس الخلية اسم **dikaryotic**. لأن الكروموسومات توجد فى صورة (ن+ن). ولو وجد آليل سائد فى إحدى النواتين، ونظيره المتنحى فى النواة الأخرى فإن الآليل السائد هو الذى يظهر تأثيره.

وتقضى الفطريات المتطفلة معظم دورة حياتها بين الطور الأحادى (ن)، والطور الـ **dicaryotic** (ن+ن)، مع فترة قصيرة بينهما فى الطور الثنائى (2 ن).

وعندما تتحد الخلايا الأحادية لتكوين الـ **dikaryon** فإن الميسيليوم الجديد إما أن يطلق عليه اسم **homothallic** إذا كانت الخليتان من نفس الميسيليوم، وإما أن يسمى **heterothallic** إذا كانت الخليتان من ميسيليومات مختلفة ذات أنواع تناسلية مختلفة. وكان **Blakeslee** - فى عام 1904 - هو أول من اكتشف ظاهرة الـ **heterothallism**.

يطلق على الخلية التى تحتوى على نواتين أو أكثر مختلفة وراثيًّا اسم Heterokaryon، ولهذه الظاهرة دور كبير فى ظهور السلالات الجديدة من فطريات الأصداء والتفحمات.

ونجد فى الفطريات الناقصة Fungi Imperfecti أن الغزل الفطرى يكون متعدد الأنوية خلال نموه النشط، وهذه الأنوية إما أن تكون متماثلة مع بعضها البعض وراثيًّا، وهى الظاهرة التى تعرف باسم homocaryosis، وإما غير متماثلة، وهى الظاهرة التى تعرف باسم heterocaryosis. وتنشأ حالة الـ heterocaryosis عند اندماج غزلان فطريان خضريان - غير متماثلين وراثيًّا - معًا. ولا يتأثر هذا الاندماج بالطراز التزاوجى. تحدث هذه الظاهرة فى الطبيعة، وهى تلعب دورًا فى تأقلم الفطريات وراثيًّا على الظروف المحيطة بها. وعندما يحدث الانقسام الميتوزى فإن محتوى الغزل الفطرى من مختلف الأنوية يتوزع على خلايا مختلفة؛ وبذا .. تتكون homocaryons تنعزل فيها المادة الوراثية فى صورة أنوية كاملة. هذا .. وتتوفر أدلة على أن الـ heterocaryons يمكن أن تغير من قدرة الفطر على إحداث المرض pathogenecity، وقد تؤدى إلى ظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى.

4 - الانعزالات الجسمية للجينات:

تتكون أنوية ثنائية (2 ن) أحيانًا فى الخلايا الفطرية المتعددة الأنوية المختلفة وراثيًّا heterokaryons باندماج نواتين معًا. ويتبع ذلك - أحيانًا - حدوث انعزالات فى هذه الأنوية عند انقسامها ميتوزيًّا، نتيجة لما يعرف باسم العبور الميتوزى Mitotic Crossing Over، الذى يتبعه الرجوع إلى الحالة الأحادية. وتظهر هذه الانعزالات الجديدة عندما تتكون الجراثيم الكونيدية - وهى غير جنسية - من واحدة من الخلايا المختلفة وراثيًّا. وقد أطلق Pontecorvo على هذه الظاهرة اسم الدورة خارج الجسمية Parasexual Cycle، أو Parasexual Reproduction، أو Parasexuality.

تظهر الخلايا الثنائية التضاعف فى الـ heterocaryons بمعدل حوالى 10-7 كنتيجة لاندماج نواتين من تلك التى توجد به. وتُنتج تلك الخلايا الثنائية التضاعف خلايا أحادية بمعدل حوالى 10-3. ولا يحدث العبور الكروموسومى أثناء عملية تكوين الأنوية الأحادية من الثنائية؛ بما يعنى أن الكروموسوم يورّث كوحدة واحدة. ولكن قد تتكون كيازما واحدة فى نحو 10% من الأنوية؛ مما يؤدى إلى حدوث انعزال جسمى. هذا .. إلاّ أن هذا العبور الجسمى لا يرتبط بعلاقة مع عملية تكوين الأنوية الأحادية من خلال النشاط الميتوزى؛ فهما أمران مستقلان عن بعضهما البعض، وقد يحدثان فى نفس الخلية أو فى خلايا مختلفة.

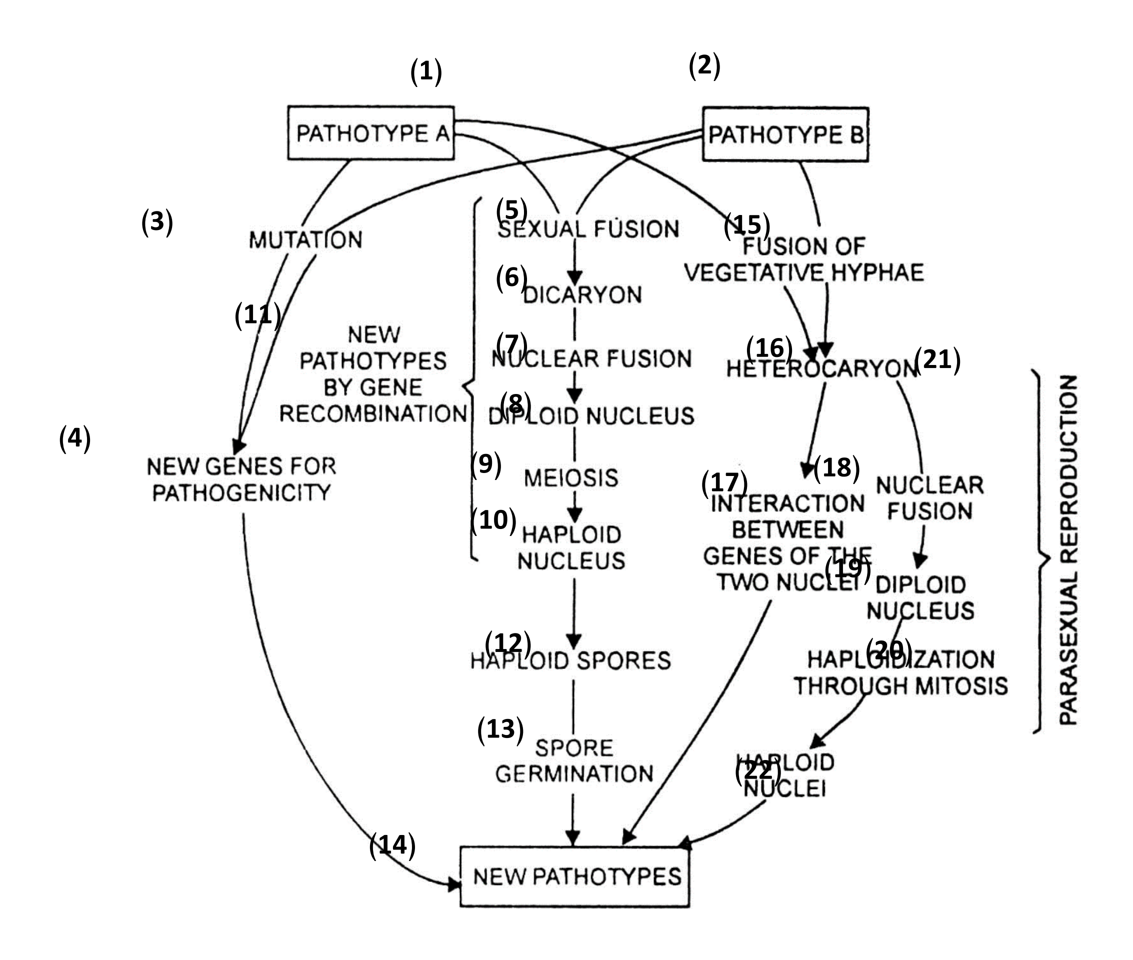
يتبين مما تقدم أن الـ heterocaryosis قد تنتج سلالات جديدة من الفطر من خلال التفاعل بين الجينات التى تتواجد فى النواتين، ولكن هذه الظاهرة - عندما تشترك معها ظاهرة التكاثر نظير أو شبيه الجنسى، فإنها تؤدى إلى إنتاج سلالات جديدة من خلال حدوث انعزال كروموسومى كامل، مع احتمال حدوث نسبة بسيطة من الانعزال الجينى كذلك فى الحالات التى يحدث فيها الانعزال الجسمى قبل الاختزال الكروموسومى الجسمى.

5 - التغيرات الوراثية غير النووية:

يوجد عديد من الأمثلة على الوراثة السيتوبلازمية لصفات هامة فى الفطريات، مثل معدل النمو والضراوة. فمثلاً .. تعود ضراوة الفطر P. graminis f. sp. avenae المسبب لمرض صدأ الساق فى الشوفان إلى الجين E الذى يورث سيتوبلازميا، كذلك ترجع ضراوة إحدى سلالات الفطر P. graminis f. sp. tritici على صنف القمح Marquis إلى عامل سيتوبلازمى لا ينتقل إلا عن طريق هيفات الفطر التى تحتوى على السيتوبلازم (عن Manners 1982، و Dixon 1984، و Singh 1993).

ويبين شكل (4-1) تخطيطاً للطرق الممكنة لإنتاج الطرز الباثولوجية الجديدة فى الفطريات الممرضة.

ولمزيد من التفاصيل عن كيفية نشأة التباينات الوراثية فى الفطريات يراجع Dickinson (2003).



شكل (4-1): الطرق الممكنة لإنتاج طرز باثولوجية جديدة فى الفطريات الممرضة:

1- طرز باثولوجى أ، 2- طراز باثولوجى ب ، 3- طفرات، 4 - جينات جديدة للقدرة على الإصابة، 5- اندماج جنسى، 6- تكوين تركيب ثنائى النوية (داى كريون)، 7- اندماج نووى، 8- نواة ثنائية التضاعف، 9- انقسام اختزالى، 10- أنوية أحادية المجموعة الكروموسومية، 11- طرز باثولوجية جديدة بالانعزال الجينى، 12- جراثيم أحادية المجموعة الكروموسومية، 13- إنبات الجراثيم، 14- طرز باثولوجية جديدة، 15- اندماج الغزل الفطرى الخضرى، 16- تكوين تراكيب متعددة الأنوية خليطة (هتروكريون)، 17- تفاعل بين جينات الهتروكريون، 18- اندماج نووى، 19 - نواة ثنائية المجموعة الكروموسومية، 20 - تكوين أنوية أحادية المجموعة الكروموسومية من خلال الانقسام الميتوزى، 21- التكاثر نظير أوشبيه الجنسى، 22-أنوية أحادية المجموعة الكرموسومية (عن Singh 1993).

ثانيًا: البكتيريا

تعتبر الطفرات أهم مصدر للاختلافات الوراثية فى البكتيريا، بما فى ذلك ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة الأكثر ضراوة. ونظرًا لأن الخلايا البكتيرية أحادية، لذا .. فإن الطفرات المتكونة تظهر فى الحال. كما تظهر التباينات الجديدة أيضًا عن طريق الانعزالات الوراثية التى تحدث بعد اندماج Conjugation خليتين بكتيريتين مختلفتين وراثيًّا وانتقال المحتوى الكروموسومى - أو جزء منه - من إحدى الخليتين إلى الخلية الأخرى. كذلك تستطيع البكتيريا إنتاج تراكيب وراثية جديدة من خلال ظاهرتى الـ transformation، والـ transduction، والتى تتطلب وجود فيروسات بكتيرية bacteriophage لحدوثها.

يؤدى حدوث أى طفرة فى جين عدم الضراوة على عدم تعرف جين المقاومة عليه؛ مما يؤدى إلى استعادة المسبب المرضى لقدرته على الإصابة، هذا ما لم يكن لجين عدم الضراوة وظيفة أخرى كما سيأتى بيانه. هذه الطفرات يمكن أن تتباين من طفرات على مستوى النيكليوتيدات إلى فقد تام لجين عدم الضراوة. وهذا الفقد للمقاومة بسبب استعادة المسبب المرضى لقدرته على إحداث الإصابة يعرف - غالبًا - باسم ضراوة **virulence**. ويمكن للفطريات والبكتيريا المتخصصة تكوين تلك الطرز الباثولوجية القادرة على كسر المقاومة بسهولة دون حدوث فقد يذكر بها فى قدرتها على البقاء والمنافسة. ويبدو أن مبدأ الانتخاب المثبت **stabilizing selection** لا ينطبق على تلك الفئة من المسببات المرضية.

وتتوفر حاليًّا أدلة على أن جينات عدم الضراوة فى البكتيريا تلعب دورين: دور فى إحداث الإصابة **pathogenicity**، ودور فى عدم الضراوة **avirulence**. ويؤثر دور إحداث الإصابة (وهو الـ **virulence** كذلك) - عادة - كذلك - فى حجم عشيرة البكتيريا فى النسيج المصاب، ويستدل على ذلك الدور من تأثيره فى حجم البقع المرضية وعددها ومظهرها. وإذا ما حدثت طفرة يُفقد فيها هذا الجين - تقود إلى عدم تعرف جين المقاومة المقابل له عليه - فإن ذلك قد يؤثر على وظيفة ضراوة **virulence** الجين، ومن ثم قدرة المسبب المرضى على البقاء والمنافسة (عن **Parlevliet 2002**).

ثالثاً: الفيروسات

تعد الطفرات الوسيلة الوحيدة التى تظهر بها التباينات الوراثية الجديدة فى الفيروسات. وبالنظر إلى أن الفيروسات توجد بأعداد فلكية فى النباتات، لذا .. فإنه يتوقع ظهور أعداد كبيرة من الطفرات فى النبات الواحد، مهما كانت معدلات ظهور الطفرات منخفضة.

تحدث الطفرات فى فيروسات الرنا بنسبة عالية جدًّا تقدر بنحو 10-4 لكل نيكليوتيدة لكل انقسام؛ مما يترتب عليه إنتاج أعداد كبيرة جدًّا من الطفرات، إلاّ أن غالبيتها لا تكون بالضرورة قادرة على البقاء، وقد لا تُتاح لها فرصة الانتخاب.

ونجد فى فيروسات الدنا وحيدة الخيط (وخاصة تلك التى تنتمى إلى الـ Geminiviridae) أن الانعزال الوراثى أمر شائع الحدوث فى الطبيعة بين الأنواع الفيروسية، وكذلك داخل النوع الواحد.

كذلك يحدث الانعزال الوراثى الكاذب pseudo-recombination فى كل من فيروسـات الدنا وفيروسـات الرنـا خاصـة بين السـلالات القريبـة من بعضها البعض، وبدرجة أقل بين السلالات البعيدة، وبدرجة نادرة بين الأنواع الفيروسية المختلفة.

كما أن الفيروسات النباتية قد تكتسب أحماضًا نووية إضافية تلعب دورًا فى التباينات الوراثية، ومن أمثلة ذلك: جزيئات الدنا المعيبة التى تنتج من انعزالات غير طبيعية، والفيروسات المعيبة غير القريبة، والتوابع الفيروسية وتوابع الأحماض النووية (عن Harrison 2002).

وقد أدى إحلال حامض أمينى واحد (Gln979-Ile) فى البروتينين الـ 130 والـ 180 كيلو دالتون الخاصين بفيرس موزايك الطماطم إلى جعل تلك الطفرة غير قادرة على التكاثر بصورة جيدة فى صنف التبغ Samsun، بينما كانت قادرة على التكاثر بصورة تامة فى صنف التبغ Craigella GCR26 (Hamamoto وآخرون 1997).

وتتعرض الفيروسات النباتية لنقص، أو لزيادة فى ضراوتها عندما يحقن بها عائل معين لعدة مرات متتالية؛ لأن العائل يحفز استمرار تكاثر سلالة معينة دون غيرها، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - انخفاض ضراوة فيرس تجعد قمة البنجر بعد مروره عدة مرات فى Chenopodium murale.

2 - زيادة ضراوة فيرس إكس البطاطس PVX بعد مروره عدة مرات فى شجرة الطماطم Cyphomandra betacea.

وفى حالات كهذه .. تكون السلالات المختلفة فى شدة ضراوتها متواجدة معًا منذ البداية، ولكن العائل يشجع على تكاثر إحداها على حساب الأخريات (عن Smith 1977).

ولمزيد من التفاصيل عن نشأة السلالات الفيروسية .. يراجع Hull (2002).

رابعًا: النيماتودا

يُعرف حوالى 20000 نوع من النيماتودا، منها نحو 3000 نوع يصيب النباتات وتتباين كثيرًا الطرق التى تتكاثر بها مختلف الأنواع النيماتودية (جدول 4-1)، وهى الوسيلة التى تظهر من خلالها الانعزالات الوراثية واحتمالات ظهور السلالات الجديدة.

إن معظم الأنواع النيماتودية ثنائية الجنس ويحدث فيها الإخصاب بعد تزاوج الجنسين الذكر والأنثى؛ أى إنها amphimictic، وتنتج بيضًا مخصبًا خلطيًّا بعد التزاوج. وفى تلك الحالة تندمج المادة الوراثية الخاصة بالذكر مع تلك الخاصة بالأنثى؛ ليصبح ذلك أكبر مصدر للتباين الوراثى.

ويعد التوالد البكرى parthenogenesis شائعًا فى الأنواع التى تتكون أساسًا أو كلية من الإناث (حالة الـ thelytoky)، وهو الذى قد يكون ميوزيًّا meiotic أو ميتوزيًّا mitotic، كما قد يكون اختياريًّا facultative أو إجباريًّا obligatory.

أما التوالد الأنثوى gynogensis (أو pseudogamy) فإنه يعد حالة غير عادية من التوالد البكرى، وقد يحدث فى الأنواع الثنائية الجنس bisexual وكذلك فى الأنواع الخنثى hermaphroditic. وفى تلك الحالة يجب أن تدخل جاميطة مذكرة (spermatozoon) فى البويضة غير الناضجة oocyte وتحفزها ثم تندثر دون أن تندمج مع نواة البويضة.

جدول (1-4): طرق تكاثر الأنواع النيماتودية المتطفلة على النباتات (عن Castagnone-Sereno 2002).

طريقة التكاثر	أمثلة	ملاحظات
إخصاب خلطى Amphimixis	Globodera spp.	
	Heterodera spp.	
توالد بكرى Apomixis (=parthenogenesis)		
• توالد بكرى ميوزى		
- إجبارى obligatory	Xiphinema spp.	الذكور غير موجودة
	Longidorus spp.	الذكور غير موجودة
- اختيارى facultative	Meloidogyne chitwoodi	يحدث فى الإناث غير الملقحة
	Tylenchulus semipenetrans	يحدث فى الإناث غير الملقحة
• توالد بكرى ميتوزى	M. arenaria	إجبارى
	M. incognita	إجبارى
	M. javanica	إجبارى

كذلك قد تكون النيماتودا خنثى؛ حيث تتكاثر بالتلقيح الذاتى automixis.

كما قد يحدث - كذلك - فى النيماتودا تبادلاً للأجيال alternation of generations يتضمن نظمًا مختلفة للتكاثر heterogony.

هذا .. إلاّ أنه فى حالة النيماتودا المتطفلة على النباتات فإن الـ amphimixis والـ arthenogenesis (منفردين أو معًا) يكونان أكثر طرق التكاثر شيوعاً.

وتتباين الأفراد النيماتودية - داخل النوع الواحد - كثيراً فى أعداد الكروموسومات التى توجد بها؛ كنتيجة للاقتضابات deletions، والإضافات duplications، والانتقالات translocations، والتضاعف التام polyploidy وغير التام aneuploidy. ويرجع ذلك جزئيًّا إلى حقيقة أن معظم الأنواع لا توجد بها كروموسومات ذات سنترومير محدد، وإنما يوجد بها سنترومير منتشر ينقصه نشاط موضعى للـ kinetochore.

ولقد دُرس موضوع التباين الكروموسومى بتعمق فى نيماتودا تعقد الجذور ذات التوالد البكرى، وهى التى نجد فيها أن العدد الأحادى للجنس (ن) = 18، إلا أن العشائر توجد بها كروموسومات جسمية تتراوح أعدادها بين 30، و 50، بينما يتراوح العدد الكروموسومى فى النوع M. hapla بين 13 كروموسوم فى الصورة الميوزية، و 68 فى الصورة الجسمية.

ونجد فى حالة التوالد البكرى الميوزى meiotic parthenogenesis (أو التلقائى automatic) أن الانقسام الاختزالى يؤدى إلى اختزال عدد الكروموسومات فى البويضة، ثم يرجع عدد الكروموسومات إلى العدد الجسمى باندماج النواة القطبية الثانية second polar nucleus مع بادئ البويضة egg pronucleus.

أما فى حالة التوالد البكرى الميتوزى mitotic parthenogenesis (أو اللاإخصابى apomictic) فلا يوجد اختزال فى الأنوية أو اندماج لها، وإنما تتطور البيضة مباشرة إلى جنين.

ونظرًا لأن معظم النيماتودا المتطفلة على النباتات تعيش فى التربة وذات قدرة منخفضة على الانتشار وتبادل الجينات بين العشائر، لذا .. فإن التوالد البكرى يوفر لها مزايا هامة تتعلق بالقدرة على التكاثر (حيث لا يتطلب الأمر التقاء الإناث بالذكور لإنتاج النسل)، وحماية التراكيب الوراثية المتميزة من الإندثار (عن Castagnone-Sereno 2002).

نظرية الجين للجين Gene for Gene Theory

تنص هذه النظرية على أن كل جين - فى العائل - يتحكم فى استجابته للمسبب المرضى، يقابله جين آخر - فى المسبب المرضى - يتحكم فى قدرته على إصابة العائل. ولا يمكن التعرف على أى جين فى العائل، أو فى المسبب المرضى إلا فى وجود الجين المناظر له.

دراسات Flor على صدأ الكتان

مقدمة

يعد Flor هو مؤسس نظرية الجين للجين التى توصل إليها فى عام 1942 من دراساته على المقاومة للفطر Melampsora lini المسبب لصدأ الكتان (Flor 1971)، ونأخذ - كمثال لشرح النظرية - دراساته على وراثة المقاومة لسلالتى الفطر رقمى 22، و 24 فى صنفى الكتان Ottawa، و Bombay، وضراوة هاتين السلالتين على نفس الصنفين عند تهجين السلالتين معًا (جدولا 4-2، و 4-3). توضح النتائج بجلاء أن جينين سائدين يتحكمان فى المقاومة فى العائل، وأن جينين متنحيين يتحكمان فى الضراوة فى المسبب المرضى كما يلى:

جدول (4-2): وراثة المقاومة للسلالتين 22، و 24 من الفطر Melampsora lini فى صنفين من الكتان.

	صنف الكتان		الجيل الأول				
سلالة	Ottawa	Bombay	للصنفين	الجيل الثانى للصنفين			
الفطر	(LLnn)	(llNN)	(LlNn)	(L-N-)	(L-nn)	(llN-)	(llnn)
22	يصاب	مقاوم	مقاوم	مقاوم	يصاب	مقاوم	مقاوم
(vLvLVNVN)							
24	مقاوم	يصاب	مقاوم	مقاوم	مقاوم	يصاب	يصاب
VLVLvNvN)							
نسب الانعزالات المشاهدة فى الجيل الثانى				110	32	45	9
نسب الانعزالات المتوقعة فى الجيل الثانى (1:3:3:9)				109	36	36	12

جدول (4-3): وراثة ضراوة سلالتى الفطر Melampsora lini رقما 22، 24 على صنفين من الكتان (عن Manners 1982).

صنف الكتان	سلالة الفطر 22	24	الجيل الأول للسلالتين	الجيل الثانى للسلالتين			
	(vLvLVNVN)	(VLVLvNvN)	(VLvLVNvN)	(VL-VN-)	(vLvLVN-)	(VL-vNvN)	(vLvLvNvN)
Ottawa (LLnn)	يصاب	مقاوم	مقاوم	مقاوم	يصاب	مقاوم	يصاب
Bombay (llNN)	مقاوم	يصاب	مقاوم	مقاوم	مقاوم	يصاب	يصاب
نسب الانعزالات المشاهدة فى الجيل الثانى				78	27	23	5
نسب الانعزالات المتوقعة فى الجيل الثانى (1:3:3:9)				75	25	25	8

يلاحظ فى جدولى (4-2)، (4-3) أن L، و N يمثلان آليلى المقاومة السائدين فى العائل، بينما يمثل l، و n الآليلين المتنحيين للقابلية للإصابة، كما يمثل vL، و vN الآليلين المتنحيين للضراوة Virulence فى الفطر، بينما يمثل VL، و VN الآليلين السائدين الخاصين بعدم القدرة على إحداث الإصابة Avirulence فى الفطر.

ففى الصنف Ottawa يوجد الجين L الذى يكسب الصنف مقاومة ضد سلالة الفطر رقم 24، إلا أن هذا الجين ليس فعالاً ضد سلالة الفطر رقم 22. أما الصنف Bombay فإنه يحمل الجين الذى يكسبه مقاومة ضد سلالة الفطر رقم 22، ولكنه ليس فعالاً ضد سلالة الفطر رقم 24.

ومن جانب الفطر .. فإن السلالة رقم 22 تحمل الجين vL الذى يكسبها القدرة على إصابة الصنف Ottawa، بينما تحمل السلالة رقم 24 الجين vN الذى يكسبها القدرة على إصابة الصنف Bombay. وفى كل حالة كانت نسبة الانعزالات فى الجيل الثانى قريبة مما هو متوقع على أساس انعزال زوجين من الجينات المستقلة، مما يدل على أن L، و N كانا مستقلين فى العائل، و VL، و VN كانا مستقلين فى الفطر. وجدير بالذكر أن نسبة الانعزالات فى الجيل الثانى لتلقيح سلالتى الفطر (جدول 4-2) كانت مماثلة لما يحدث فى الكائنات الثنائية التضاعف؛ لأن كل مزرعة كانت ثنائية الأنوية Dikaryon ونشأت من إخصاب Pycnium (Day 1974).

وقد أوضحت الدراسات الأولى التى أجراها Flor أن المقاومة لصدأ الكتان يتحكم فيها 25 آليلاً فى خمسة مواقع جينية كما يلى:

الموقع	عدد آليلات المقاومة	الآليلات السائدة	آليل القابلية للإصابة
K	1	K	k
L	11	L إلى L10	l
M	6	M إلى M5	m
N	3	N إلى N2	n
P	4	P إلى P3	p

وتجدر الإشارة إلى أن أى صنف ثنائى التضاعف لا يمكن أن يكون أصيلاً فى أكثر من خمسة أزواج من جينات المقاومة.

وبناء على نتائج دراسات Flor .. فقد اقترح أن جينات الضراوة - فى المسبب المرضى - تكون دائمًا متنحية، إلا أن الدراسات اللاحقة على مسببات مرضية أخرى أوضحت أن الضراوة يمكن أن تكون أحيانًا سائدة. وعندما يكون المسبب المرضى أحاديًّا فى طوره المتطفل - كما فى معظم الفطريات الزقية على سبيل المثال - فإن السيادة والتنحى لا يمكن ظهورهما.

تفاصيل دراسات Flor

قام Flor بتلقيح 17 صنفًا من الكتان مع الصنف Bison الذى كان قابلاً للإصابة بجميع السلالات المعروفة من الفطر المسبب لصدأ الكتان Melampsora lini، وأعقب ذلك تلقيح نباتات الجيل الأول ذاتيًّا لإنتاج الجيل الثانى. تباينت نسبة انعزال النباتات المقاومة إلى القابلة للإصابة فى الجيل الثانى بين 1:3، و 1:15، و 1:63؛ بما يعنى أن المقاومة كانت سائدة ويتحكم فيها زوج واحد، وزوجين، وثلاثة أزواج من الجينات.

ويستدل من نتائج Flor المبينة فى جدول (4-4) أن السبعة عشر صنفًا المقاومة التى استعملها فى دراسته يمكن أن يوجد بها 27 جينًا للمقاومة، وأنه إذا ما تكررت بعض جينات المقاومة فى بعض الأصناف فإن العدد يكون أقل من ذلك. ولحسم الأمر بشأن هذين الاحتمالين فإن الأصناف التى تحتوى على جين واحد للمقاومة يمكن تلقيحها بسلالات مختلفة من الفطر، فإذا ما كان تفاعل تلك الأصناف متشابهًا فإن ذلك يعنى أن جميعها تحتوى - غالبًا - على نفس جين المقاومة. وكبديل لذلك الإجراء .. فإن الصنفين يمكن تلقحيهما معًا واختبار تفاعل نباتات الجيل الثانى مع سلالات الفطر التى قاومها الأبوان. ويدل انعدام الانعزال فى الجيل الثانى لتلك التلقيحات (عدم ظهور نباتات قابلة للإصابة) على تماثل جينات المقاومة بين أبوى كل تلقيح.

جدول (4-4) نتائج تلقيح 17 صنفًا من الكتان مع الصنف القابل للإصابة Bison، والانعزال للمقاومة والقابلية للإصابة بالفطر Melampsora lini فى الجيل الثانى (عن Strange 1993).

رقم الأب	نتائج الانعزال (مقاوم: قابل للإصابة) عندما كانت العدوى			
المقاوم فى التلقيح	بالسلالة رقم 1	بالسلالة رقم 7	بالسلالة رقم 24	بمخلوط من 4 سلالات
1	1 : 3			
2	1 : 3			
3	1 : 3			
4	1 : 3			
5		1 : 15		
6		1 : 15		
7			1 : 3	
8			1 : 3	
9			1 : 15	
10			1 : 15	
11			1 : 15	
12			1 : 63	
13				1 : 3
14				1 : 3
15				1 : 3
16				1 : 15
17				1 : 63

وفى إحدى التجارب قام **Flor** بتلقيح الصنف **Bison** القابل للإصابة بجميع سلالات الفطر مع الصنف **Williston Golden**، ثم قام بحقن أوراق مختلفة من نباتات الجيل الثانى لهذا التلقيح بثلاث سلالات من الفطر (هى أرقام 7، و 16، و 52)؛ وبذا .. أمكنه تعرف استجابة كل نبات لكل من سلالات الفطر الثلاث. أوضحت النتائج (جدول 4-5) وجود أربع فئات من النباتات، كما يلى:

1 - فئة مقاومة للسلالات الثلاث.

2 - فئة مقاومة للسلالتين 7، و 52 ولكنها قابلة للإصابة بالسلالة 16.

3 - فئة مقاومة للسلالتين 7، و 16 ولكنها قابلة للإصابة بالسلالة 52.

4 - فئة قابلة للإصابة بجميع السلالات.

ولقد كانت نسبة الانعزالات لتلك الفئات الأربع هى 9:3:3:1؛ مما يدل على وجود جينين للمقاومة يتحكم أحدهما فى المقاومة للسلالة 16 والآخر يتحكم فى المقاومة للسلالة 52، بينما يوفر كلاهما مقاومة ضد السلالة 7.

جدول (4-5): نتائج تلقيح صنفين من الكتان وانعزالات المقاومة (R) والقابلية للإصابة (S) فى الجيل الثانى استجابة للتلقيح بثلاث سلالات من الفطر المسبب لصدأ الكتان Melampsora lini.

	الأصناف					
	Williston	فئات نباتات الجيل الثانى				نسبة S : R
السلالة	Golden × Bison	1	2	3	4	فى الجيل الثانى
7	R S	R	R	R	S	S1 : R15
16	R S	R	S	R	S	S1 : R 3
52	R S	R	R	S	S	S1 : R 3
عدد نباتات الجيل الثانى الكلية المدروسة		92	26	28	10	
النسبة التقريبية		9 :	3 :	3 :	1	

وفى تجربة أخرى قام Flor بتلقيح الصنفين Ottawa، و Bombay معًا، وهما صنفان مقاومين للسلالة 3. أظهر الجيل الثانى للتلقيح بينهما انعزالاً بنسبة 15 مقاوم : 1 قابل للإصابة؛ بما يعنى أن المقاومة يتحكم فيها زوجان من الجينات المستقلة. ولقد قام Flor بعدوى أوراق أخرى من نباتات الجيل الثانى بالسلالتين 22، و 52؛

حيث أظهرت النتائج - كما فى حالة العدوى بالسلالة 3 - أن المقاومة يتحكم فيها زوجان من الجينات. ويستدل من نتائج تلك التجربة (جدول 4-6) أن أحد هذين الجينين يتحكم فى المقاومة للسلالة 22، وأن الجين الآخر يتحكم فى المقاومة للسلالة 52، بينما يتحكم كلاهما فى المقاومة للسلالة 3.

جدول (4-6): نتائج تلقيح صنفين من الكتان (Ottawa، و Bombay) واستجابتهما واستجابة نباتات الجيل الثانى للتلقيح بينهما للعدوى بثلاث سلالات من الفطر المسبب لصدأ الكتان Melampsora lini.

السلالة	الأصناف		أقسام نباتات الجيل الثانى				نسبة النباتات المقاومة (R) إلى القابلة للإصابة (S) فى الجيل الثانى
	Ottawa	× Bombay					
3	R	R	R	R	R	S	S1 : R15
22	S	R	R	R	S	S	S1 : R 3
52	S	R	R	S	R	S	S1 : R 3
العدد الكلى لنباتات الجيل الثانى المدروسة			110	43	32	9	
النسبة التقريبية			9 :	3 :	3 :	1	

ولقد حصل Flor على نتائج مختلفة عما سبق بيانه عندما لقح صنف الكتان Ottawa 770B مع الصنف J.W.S.، ثم قام بعدوى نباتات الجيل الثانى بالسلالات 7، و 19، و 22؛ حيث لم يكن أى من النباتات المختبرة قابلاً للإصابة بالسلالات الثلاث جميعهم (جدول 4-7).

ولقد كان الاستنتاج أن المقاومة يتحكم فيها جينين آليليين يوجدان فى الصنف J.W.S. ويتحكم أحدهما فى المقاومة للسلالة 7، ويتحكم الآخر فى المقاومة للسلالة 22، وأن أحدهما - وهو الذى يوجد كذلك فى الصنف Ottawa - يتحكم فى المقاومة للسلالة 19 أيضًا؛ ولمّا لم يحدث انعزال حر لهذا الجين فى نباتات الجيل الثانى، فإنه لم تظهر فيه (فى الجيل الثانى) نباتات قابلة للإصابة بالسلالة 19.

ومن النتائج الهامة الأخرى لدراسات Flor أنه بحث - كذلك - وراثة الضراوة virulence فى الفطر M. lini ووجد أن صفة الضراوة كانت متنحية وأن صفة عدم الضراوة avirulence كانت سائدة. ويظهر فى جدول (4-8) التراكيب الوراثية الثنائية المجموعة الكروموسومية للعائل والتراكيب الوراثية الثنائية النواة dikaryotic للفطر فى الآباء والجيلين الأول والثانى، ونـوع التفاعل الحادث فى مختلـف حالات التوافق بينها.

جدول (4-7): نتائج تلقيح صنفين من الكتان (Ottawa 7708، و J.W.S.) واستجابتهما واستجابة نباتات الجيل الثانى بينهما للعدوى بثلاث سلالات من الفطر Melampsora lini المسبب لمرض صدأ الكتان.

	الأصناف						نسبة النباتات المقاومة (R) إلى
السلالة	× J.W.S. Ottawa770B		أقسام نباتات الجيل الثانى				القابلة للإصابة (S) فى الجيل الثانى
19	R	R	R	R	R	S	R 1 : صفر S
7	S	R	R	R	S	S	S 1 : R 3
22	S	R	R	S	R	S	S 1 : R 3
العدد الكلى لنباتات الجيل الثانى المدروسة			95	45	48	صفر	
النسبة التقريبية			2 : 1 : 1 : صفر				

جدول (4-8): تفاعلات الآباء ونباتات الجيليين الأول والثانى للكتان فى تلقيح بين أحد الآباء الأصيلة فى صفة المقاومة وأب أصيل فى صفة القابلية للإصابة، مع التلقيح المقابل للفطر والذى فيه أحد الآباء أصيل فى صفة عدم الضراوة avirulence والآخر أصيل فى صفة الضراوة virulence (-: تفاعل غير متوافق incompatible أى إن العائل مقاوم والطفيل عديم الضراوة، و +: تفاعل متوافق compatible أى إن العائل قابل للإصابة والطفيل قادر على إحداث الإصابة virulent، علمًا بأن صفتى المقاومة وعدم الضراوة سائدتان (عن Stramge 1993).

التركيب الوراثى للطفيل		التركيب الوراثى للعائل					
		الصنف 1	الصنف 2	الجيل الأول	الجيل الثانى		
		R1R1	r1r1	R1r1	R1R1	R1r1	r1r1
السلالة 1	Av1Av1	-	+	-	-	-	+
السلالة 2	av1av1	+	+	+	+	+	+
الجيل الأول	Av1av1	-	+	-	-	-	+
}	Av1Av1	-	+	-	-	-	+
الجيل الثانى	Av1av1	-	+	-	-	-	+
	av1av1	+	+	+	+	+	+

ويمكن تبسيط النتائج المبينة فى جدول (4-8) بتجاهل طبيعة العائل الثنائية التضاعف والتواجد الثنائى الأنوية فى الطفيل فيما يعرف بالـ quadratic check هكذا.

	R1	r1
Av1	-	+
av1	+	+

حيث إن:

- تعنى أن التفاعل غير متوافق (مقاومة)

+ تعنى أن التفاعل متوافـــــق (إصابـة)

ويمكن صياغة هذه العلاقة الوراثية على النحو التالى:

يوجد فى مقابل كل جين يتحكم فى المقاومة فى العائل جينًا يتحكم فى عدم القابلية للإصابة فى المسبب المرضى (Strange 1993).

ويمكن تلخيص نتائج دراسات Flor فيما يلى:

يتحكم فى المقاومة للصدأ فى الكتان عددًا من الجينات السائدة أعطاها Flor رموزًا مختلفة (مثل: N، و P)، بينما يتحكم فى قدرة سلالات الفطر على الإصابة جينات متنحية أعطيت الرمز a، مع حرف تحتى subscrip يحدد جين المقاومة الذى يتغلب عليه جين الضراوة a المعنى. وبذا .. فإن المقاومة التى يتحكم فيها التركيب الوراثى NN يتغلب عليها الطراز الباثولوجى الذى يحمل التركيب الوراثى aNaN، ولا يكون لأى من الطرز الباثولوجية (الممرضة) الأخرى القدرة على إصابة هذا النبات. وبالمثل .. فإن المقاومة التى يوفرها التركيب الوراثى PP يتغلب عليها الطراز الباثولوجى الذى يحمل التركيب الوراثى aPaP فقط، والمقاومة التى يوفرها التركيب الوراثى NNPP لا يتغلب عليها إلا الطراز الباثولوجى ذو التركيب الوراثى aNaNaPaP (جدول 4-9).

جدول (4-9): تفاعل العائل مع المسبب المرضى فى حالة صدأ الكتان كما قدمها Flor (عن Singh 1993).

التركيب الوراثى للعائل	التركيب الوراثى للمسبب المرضى(أ)	نوع التفاعل
nn pp	ANAN APAP	إصابة
	ANAN aPaP	
	aNaN APAP	
	aNaN aPaP	
nN pp	ANAN APAP	مقاومة
	ANAN aPaP	
	aNaN APAP	إصابة
	aNaN aPaP	
nn PP	ANAN APAP	مقاومة
	aNaN APAP	
	ANAN aPaP	إصابة
	aNaN aPaP	
NN PP	ANAN APAP	مقاومة
	ANAN aPaP	
	aNaN APAP	
	aNaN aPaP	إصابة

أ - ترجع القدرة على إحداث الإصابة virulence إلى جين متنح يأخذ الرمز a، مع استعمال رمز جين المقاومة - الذى يكون جين الـ virulence قادرًا على كسره - كحرف تحتى؛ فمثلاً .. aN يرمز إلى جين الـ virulence الذى يكون قادرًا على كسر جين المقاومة N. وقد أشير فى الجدول إلى التراكيب الوراثية الثنائية التضاعف للمسبب المرضى لأن الجراثيم اليوريدية التى تنتشر بها الإصابة ثنائية الأنوية dicaryotic ونجد فى حالة الخلط الوراثى heterozygosity (مثلاً: ANaN) أن المسبب المرضى يكون غير قادر على إحداث الإصابة avirulent لأن صفة الـ virulence متنحية. أما فى حالة المسببات المرضية التى تكون جراثيمها أحادية التضاعف ووحيدة النواة، فإنه تستعمل التراكيب الوراثية الأحادية للمسبب المرضى، مثل aNaP بدلاً من aNaNaPaP المستعملة فى هذا المثال.

الحالات المرضية التى تنطبق عليها نظرية الجين للجين

وجد أن نظرية الجين للجين تنطبق على عديد من الحالات المرضية التى تتباين مسبباتها ما بين الفطريات، والبكتيريا، والفيروسات، والنيماتودا، والحشرات، والنباتات المتطفلة (جدول 4-10).

وأغلب الحالات التى تنطبق عليها النظرية تكون فيها المقاومة بسيطة، أو يتحكم فيها عدد محدود من الجينات، ولكن توجد حالات قليلة ذات مقاومة كمية.

جدول (4-10): بعض حالات الأمراض النباتية التى تنطبق عليها نظرية الجين للجين، أو يعتقد بانطباقها عليها (عن Basandari & Basandari 2000).

جنس العائل	المسبب المرضى	المرض
Linum	Melampsora lini	الصدأ
Zea	Puccinia sorghi	الصدأ
Triticum	P. graminis tritici	الصدأ
Triticum	P. striiformis	الصدأ
Helianthus	P. helianthi	الصدأ
Triticum	Ustilago tritici	الصدأ
Avena	P. g. avenae	الصدأ
Coffee	Hemilea vastarix	الصدأ
Triticum	P. recondita	الصدأ
Triticum	P. g. secalix	الصدأ
Pinus	Croartium ribicola	الصدأ
Ribes	C. ribicola	الصدأ
Phaseolus	Uromyces phaseoli	الصدأ
Avena	Ustilago avenae	الصدأ
Hordeum	U. hordei	الصدأ
Triticum	Tilletia caries	التفحم المغطى
Triticum	T. controversa	التفحم المغطى
Triticum	Erysiphe g. tritici	البياض الدقيقى
Hordeum	E. g. hordei	البياض الدقيقى

تابع جدول (4-10):

المرض	المسبب المرضى	جنس العائل
البياض الدقيقى	E. g. agropyri	Triticum
البياض الزغبى	Bremia lactucae	Lactuce
البياض الزغبى	Peronospora trifoliorum	Alfalfa
الجرب	Venturia inaequalis	Malus
العصفة	Pyricularia oryzae	Oryza
الندوة المتأخرة	Phytophthora infestans	Solanum
التثألل	Synchytrium endobiotricum	Solaum
عفن الأوراق	Cladosporium fulvum	Lycopersicon
الأنثراكنوز	Colletotrichum lindemuthianum	Phaseolus
لفحة هلمنثوسبوريم	Helminthosporium turcicum	Zea
الذبول الفيوزارى	Fusarium oxysporum melonis	Cucumis
الذبول المتبقع	Spotted wilt virus	Lycopersicon
موزايك الطماطم	Tomato Mosaic virus	Lycopersicon
الرايزوبيم	Rhizobium	Trifolium
الذبول البكتيرى	Xanthomonas malvacearum	Gossypium

Phaseolus	Bean common mosaic virus	موزايك الفاصوليا العادى
Capsicum	Tobacco mosaic virus	موزايك التبغ
Solanum	Potato virus X	إكس البطاطس

ولعل السبب فى التعرف على حالات كثيرة من الأمراض الفيروسية التى تنطبق عليها نظرية الجين للجين عدم اكتشاف أكثر من جين واحد للمقاومة فى الغالبية العظمى من الأمراض الفيروسية، وربما يرجع ذلك - مقارنة بعديد من حالات الأمراض الفطرية التى تتعدد فيها جينات المقاومة فى العائل - إلى بساطة الجينوم الفيروسى بما لا يتيح أى فرصة لحدوث تغيرات تطورية فى العائل (عن Fraser 1990).

وتنطبق نظرية الجين للجين - فى حالة الإصابات النيماتودية - على نوعى نيماتودا التحوصل Globodera rostochiensis، و G. pallida اللذان يتغلبان على جين المقاومة السائدين H1، و H2 على التوالى. وقد أوضحت الدراسات الوراثية أن حالة الضراوة يتحكم فيها جين واحد متنح (عن Roberts 1995).

أنواع التفاعلات بين جينات المقاومة وجينات الضراوة

تبعًا لنظرية الجين للجين فإن كل جين للمقاومة فى العائل يقابله جين للضراوة فى المسبب المرضى، وقد اكتشف Flor من دراسته على مقاومة الصدأ فى الكتان وجود 26 جينًا للمقاومة فى العائل يقابلها 26 جينًا للضراوة فى الفطر المسبب للمرض Melampsora lini، وقد كانت جميع جينات المقاومة سائدة وأعطيت الرموز: R1، و R2، و R3 ... إلخ. بينما كانت جميع جينات الضراوة متنحية وأعطيت الرموز: v1، و v2، و v3 ... إلخ.

وبمقتضى هذه النظرية فإن النبات الذى يحمل جينًا للمقاومة - وليكن R1 - يكون قابلاً للإصابة بسلالة الفطر التى تحمل جين الضراوة المقابل v1، وليس لأى سلالة لا تحمـل هذا الجين أيًّا كان عدد جينات الضراوة الأخـرى التى تحملها تلك السلالة. وبذا .. فإن جين المقاومة R1 لا يمكن التعرف عليه إلا بجين الضراوة المقابل له v1 (حيث يُنتَج عن تلاقيهما تفاعل القابلية للإصابة)، وليس بأى جين آخر للضراوة لا يمكنه التمييز بين جين المقاومة وجين القابلية للإصابة.

ويتبين لدى مقارنة مختلف التراكيب الوراثية لجين واحد بكل من العائل والمسبب المرضى، ما يلى:

التركيب الوراثى للعائل	التركيب الوراثى للمسبب المرضى	رد الفعل
R1-	V1-	مقاوم
R1-	v1v1	قابل للإصابة
r1r1	V1-	قابل للإصابة
r1r1	v1v1	قابل للإصابة

ويستدل من ذلك أن علاقة الجين بالجين لا تكون واضحة عندما يكون لدينا جين واحد للمقاومة إذ إن ثلاثة من احتمالات التوافيق بين جين المقاومة وجين الضراوة تعطى رد فعل قابل للإصابة، وبذا لا يمكن التمييز بينها.

ويتعين لذلك أخذ جينًا آخر R2 للمقاومة، وسلالة أخرى من المسبب المرضى تكون قادرة على كسر مقومة R2، ولكن ليس R1؛ فحينئذٍ - فقط يكون لكل جين للمقاومة فى العائل جينًا مقابلاً له خاص بالضراوة فى المسبب المرضى، وتكون العلاقة بين التراكيب الوراثية الممكنة للعائل والتراكيب الوراثية الممكنة للضراوة، كما يلى:

التركيب الوراثى للعائل	التركيب الوراثى للمسبب المرضى	رد الفعل
r2r2-R1	-v1v1 V2	قابل للإصابة
r2r2-R1	v2v2-V1	مقاوم
-r1r1 R2	V1v1 V2-	مقاوم
-r1r1 R2	v2v2-V1	قابل للإصابة

فهنا .. يتم التعرف على جين المقاومة فى العائل (R1 أو R2) بجين الضراوة المقابل (v1 أو v2)، ليكون رد الفعل "القابلية للإصابة"؛ فالعائل الحامل لجين المقاومة R1 يكون قابلاً للإصابة بسلالة حاملة لجين الضراوة v1 وليس لأى سلالة أخرى بدون هذا الجين أيًّا كانت جينات الضراوة الأخرى التى تحملها تلك السلالة (v2 فى مثالنا).

ونقدم فى جدول (4-11) مزيدًا من التفاصيل حول التفاعل (متوافق أم غير متوافق) فى عدد أكبر من تباينات التركيب الوراثى للعائل (الثنائى التضاعف الأصيل والخليط فى زوجين من العوامل الوراثية) ولسلالات المسبب المرضى الفطرى (الأحادى المجموعة الكروموسومية).

وإذا توسعنا فى عدد جينات المقاومة وما يقابلها من جينات الضراوة إلى ثلاثة، فإن صورة رد الفعل تكون كما هو مبين فى جدول (4-12).

يتبين من الجدول أن العائل الذى يفتقد جينات المقاومة الثلاثة (أى الذى يكون تركيبه الوراثى r1r1r2r2r3r3) يكون قابلاً للإصابة بجميع سلالات المسبب المرضى أيًّا كان ما تحمله من جينات الضراوة. هذا فى الوقت الذى يكون فيه النبات الذى يحمل الجين R1 قابلاً للإصابة بالسلالة (1) وأى سلالة أخرى بها (1) فى مسماها (وهى التى تحمل جين الضراوة v1)، ولكنه يكون مقاومًا لجميع السلالات التى لا يوجد بها (1) فى تكوينها. كذلك فإن النبات الذى يحمل الجينين R1، و R2 يكون قابلاً للإصابة بالسلالة (1، 2) وبأى سلالة أخرى بها (1، 2) فى مسماها (وهى التى تكون حاملة لجينى الضراوة v1، و v2)، ولكنه يكون مقاومًا للسلالات الأخرى، وهكذا .. بالنسبة لأى توافيق أخرى من جينات المقاومة، إلى أن نصل إلى التركيب الوراثى R1R2R3 الذى لا يكون قابلاً للإصابة إلاّ بالسلالة (1، 2، 3).

جدول (4-11): وراثة حالات التفاعل حسب نظرية الجين للجين على أساس وجود زوجين من جينات المقاومة (R1، و R2) فى العائل وجينين لعدم الضراوة (AVR1، و AVR2) فى المسبب المرضى الفطرى (عن Dickinson 2003)

	التراكيب الوراثية لأصناف العائل			
	R1R1R2R2	R1R1 r2r2	r1r1R2R2	r1r1r2r2
	R1R1R2r2	R1r1 r2r2	r1r1R2r2	
التراكيب الوراثية	Rrr1R2R2			
لسلالات الفطر الممرض	R1r1R2r2			
AVR1AVR2	I	I	I	C
AVR1avr2	I	I	C	C
avr1AVR2	I	C	I	C
avr1avr2	C	C	C	C

I: تفاعل متوافق compatible؛ أى إن النبات قابل للإصابة.

C: تفاعل غير متوافق incompatible؛ أى إن النبات مقاوم.

جدول (4-12): تفاعلات المقاومة والقابلية للإصابة عند وجود ثلاثة جينات للمقاومة فى العائل، وثلاثة جينات للضراوة فى المسبب المرضى (عن Chahal & Gosal 2002).

	السلالة (ما تحمله من جينات الضراوة v)							
جينات المقاومة	(صفر)	(1)	(2)	(3)	(1 ، 2)	(1، 3)	(2، 3)	(1، 2، 3)
r	S	S	S	S	S	S	S	S
R1	R	S	R	R	S	S	R	S
R2	R	R	S	R	S	R	S	S
R3	R	R	R	S	R	S	S	S
R1R2	R	R	R	R	S	R	R	S
R1R3	R	R	R	R	R	S	R	S
R2R3	R	R	R	R	R	R	S	S
R1R2R3	R	R	R	R	R	R	R	S

R = مقاوم resistant، و S = قابل للإصابة susceptible.

ويُستدل مما تقدم أن أى جين للمقاومة لا يمكن التعرف عليه إلا فى وجود جين يقابله للضراوة، أى إنه - فى نظرية الجين للجين - فإن رد الفعل الخاص بين جينات المقاومة وجينات الضراوة يكون هو ذلك المتعلق بالقابلية للإصابة، بينما يكون رد الفعل المتعلق بالمقاومة عامًّا وغير متخصص.

هذا .. ولا يعرف على وجه التحديد ماذا يحدث بالضبط فى التفاعل بين جين المقاومة السائد وجين الضراوة المتنحى؛ فلربما تتفاعل نواتج الجينين معًا ليتكون مركب هجين) يكون هو القادر على حث تفاعل الدفاع فى العائل (عن Chahal & Gosal 2002).

إن الضراوة virulence صفة وراثية يتحكم فيها - عادة - أكثر من جين، وعند كل موقع من تلك الجينات يوجد - عادة - آليلين. وفى كثير من الفطريات الممرضة التى يشغل فيها الـ dicaryon الجزء الأكبر من دورة حياة الفطر (مثل الأصداء والتفحمات) تكون حالة عدم الضراوة avirulence - غالبًا - سائدة على حالة الضراوة virulence، على عكس الفطريات التى لا يشغل فيها الـ dicaryon سوى مرحلة قصيرة من دورة الحياة، حيث تكون حالة الضراوة هى السائدة غالبًا. وتجدر الإشارة إلى أن الطور المتطفل يكون فى المجموعة الأخيرة من الفطريات أحادى المجموعة الكروموسومية (عن Singh 1993).

وقد رُبطت نظرية الجين للجين بعدد من "الأقفال والمفاتيح"؛ حيث اعتبر كل جين فى العائل يتحكم فى المقاومة للمسبب المرضى بمثابة موقع محتمل لقفل، علمًا بأن جميع الأقفال هى آليلات سائدة تمنع المسبب المرضى من التمكن من فرض وجوده فى العائل. ولا يكون المسبب المرضى فعالاً إلاّ إذا امتلك مفتاحًا لكل قفل فى العائل، أو إذا افتقد العائل أحد الأقفال. وتمثل المفاتيح آليلات متنحية للضراوة فى المسبب المرضى. فمثلاً .. إذا كان التركيب الوراثى للعائل AABBcc فإن المسبب المرضى يجب أن يحتوى على الآليلات المتنحية aa، و bb لكى يمكنه إحداث الإصابة (جدول 4-13). أما الآليلات عند الموقع c فى المسبب المرضى فإنها يمكن أن تكون سائدة أو متنحية لأن العائل يفتقد الآليل السائد C الذى "يقفل" المقاومة اللازمة (عن Fehr 1987).

جدول (4-13): توافقات الآليلات السائدة للمقاومة فى النبات والآليلات المتنحية للضراوة فى العائل التى ينتج عنها تفاعلات المقاومة أو القابلية للإصابة فى النبات (عن Fehr 1987).

الصنف	جينات المقاومة فى النبات	جينات الضراوة فى المسبب المرضى	استجابة النبات
1	لا يوجد أى منها	أى جين للضراوة	قابل للإصابة
2	A-	لا يوجد	مقاوم
3	A-	aa	قابل للإصابة
4	A-B-	aa	مقاوم
5	A-B-	bb	مقاوم
6	A-B-	aa bb	قابل للإصابة
7	A-B-C-	aa bb	مقاوم
8	A-B-C-	aabbcc	قابل للإصابة

ويعطى Boller & Meins (1992) مزيدًا من التفاصيل عن التفاعلات بين جينات المقاومة وجينات الضراوة، وذلك على المستوى الجزيئ.

الموديلات التى يُستعان بها فى تطبيق نظرية الجين للجين

تعرف أربعة موديلات لنظرية الجين للجين حسب خصوصية التفاعل بين جينات العائل وجينات الطفيل الذى يعطى رد الفعل الذى يصنف على أساسه النبات إن كان مقاومًا أو قابلاً للإصابة، كما يلى:

1 - موديل Flor (موديل 1) الذى سبق عرضة، والذى تُحدد فيه حالة المقاومة نتيجة للتفاعل بين جين سائد للمقاومة (R) فى العائل وجين آخر سائد - كذلك - (Av) فى الطفيل يتحكم فى خاصية عدم الضراوة.

2 - موديل 2 (نظرية Wheeler)، وفيه تتحدد حالة القابلية للإصابة نتيجة للتفاعل بين جين متنح للقابلية للإصابة (r) فى العائل وجين آخر متنح - كذلك - (a) يتحكم فى خاصية الضراوة. وتحدث حالة عدم التوافق فى هذا الموديل نتيجة لغياب التوافقات المناسبة لتلك الآليلات (جدول 4-14).

جدول (4-14): التفاعلات المتوقعة من النظرية الافتراضية التى تنص على أن التوافق (تفاعل القابلية للإصابة) يحدث نتيجة للتفاعل بين آليلات متنحية تتحكم فى كل من القابلية للإصابة (r) والضراوة (a)، وأن التوافقات المتوافقة تكون متفوقة epistatic على التفاعلات غير المتوافقة (-: غير متوافقة، و +: متوافقة).

	التركيب الوراثى للطفيل			
التركيب الوراثى للعائل	a1a2	a1A2	A1a2	A1A2
r1r1	+	+	+	-
R1r2	+	-	+	-
r1R2	+	+	-	-
R1R1	-	-	-	-

3 - موديل 3 (نظرية Van der Plank)، وفيه تتحدد خاصية التفاعل بين جينات سائدة للمقاومة فى العائل (R) وأخرى متنحية (a) فى الطفيل، ولا يحدث التوافق (القابلية للإصابة) إلاّ عندما تتقابل آليلات a بالطفيل مع جينات المقاومة R المقابلة لها فى العائل (جدول 4-15).

جدول (4-15): التفاعلات المتوقعة من الافتراض بأن حالة التوافق تحدث عند التفاعل بين جين سائد للمقاومة بالعائل (R) مع جين متنح (a) فى الطفيل (-: تفاعل عدم التوافق أى المقاومة، و +: تفاعل التوافق أى القابلية للإصابة).

	التركيب الوراثى للطفيل		
التركيب الوراثى للعائل	a1	a2	a3
R1	+	-	-
R2	-	+	-
R3	-	-	+

4 - موديل 4 (نظرية Crute & Norwood)، وفيه يُحِثُّ جين الطفيل السائد (A) ظهور حالة المقاومة فى العوائل التى ينقصها الجين r، علمًا بأنه يفترض أن r يبطل تأثير A. وتؤدى الطفرة من A إلى a إلى إلغاء القدرة على استثارة حدوث تفاعل المقاومة (جدول 4-16).

جدول (4-16): التفاعلات المتوقعة بناء على النظرية التى تفترض أن تفاعل عدم التوافق (المقاومة) ينتج من آليل سائد للضراوة فى الطفيل (A) ما لم يقابله آليل متنح للقابلية للإصابة (r) فى العائل (-: تفاعل غير متوافق أى مقاومة، و +: تفاعل متوافق أى قالية للإصابة).

	التركيب الوراثى للطفيل			
التركيب الوراثى للعائل	a1a2	a1A2	A1a2	A1A2
r1r2	+	+	+	+
R1r2	+	+	-	-
r1R2	+	-	+	-
R1R2	+	-	-	-

هذا .. إلا أن خاصية عدم الضراوة لا تكون دائمًا بسيطة فى وراثتها؛ فهى قد يتحكم فيها عدد قليل من الجينات (أى تكون oligogenic)، وفى حالات كهذه تكون التفاعلات بين الجينات المتحكمة فى المسار الأيضى gene-for-gene pathway، وليس بين الجينات gene-for-gene، حيث يتوقف التفاعل على وجود أو غياب نواتج مختلف الجينات فى المسار الأيضى (عن Strange 1993).

ولمزيد من التفاصيل عن نظرية الجين للجين وصلتها بوارثة المقاومة للأمراض .. يراجع Crute وآخرين (1997)، و Prell & Day (2001).

الخصائص الفسيولوجية المصاحبة لتفاعل الجين مع الجين

إن من أهم الخصائص الفسيولوجية المصاحبة لتفاعل الجين مع الجين، ما يلى:

1 - على الرغم من حدوث موت للخلايا فى معظم التفاعلات (وهى تفاعلات فرط الحساسية)، فإن المقاومة فى حالات أخرى - كتلك التى يتحكم فيها الجين Cf فى الطماطم ضد الفطر Cladosporium fulvum - لا تعد من حالات فرط الحساسية الكلاسيكية.

2 - نجد فى البياض الزغبى فى الخس أن تفاعل فرط الحساسية لا يحدث إلى فى الخلايا التى يخترقها الفطر فقط، إلاّ أن التحلل necrosis يعد ظاهرة عامة مع جينات معينة للمقاومة للبياض الدقيقى فى الشعير، ويؤثر C. fulvum على خلايا أخرى غير تلك التى يلامسها الفطر بصورة مباشرة؛ بما يعنى أن مثيرات التفاعل تنتشر إلى الخلايا المجاورة.

3 - لا يتوفر فهم جيد لسبب موت الخلايا (الضرر النهائى للأغشية الخلوية)، إلاّ أن تفاعلات الأكسدة تعد عاملاً رئيسيًّا فى هذا الشأن.

4 - تموت الخلايا فى معظم الحالات قبل توقف النمو الفطرى، ولكن يشذ عن تلك القاعدة حالة التفاعل بين الطماطم والفطر C. fulvum؛ حيث يتوقف النمو الفطرى فى بعض الأصناف المقاومة دون حدوث موت للخلايا.

5 - يُعد الموت السريع للخلايا أثناء تفاعل فرط الحساسية سابقًا لتوقف النمو الفطرى فى حالة المسببات المرضية الإجبارية التطفل، إلا أن تولد بيئة مضادة للفطريات من خلال تراكم الفيتوألاكسينات والفينولات يعد أمرًا أساسيًّا فى كثير من الحالات، وخاصة مع الجينات الأبطأ فى فعلها (عن Mansfield وآخرين 1997).

إن علاقة الجين بالجين هى نتيجة أو محصلة لتفاعلات خاصة بين نواتج جينات تتحكم فى مقاومة العائل، وأخرى تتحكم فى القدرة على إحداث الإصابة بالمسبب المرضى.

وعلى سبيل المثال .. ينتج الفطر Helminthosporium sacchari - مسبب مرض لفحة الأوراق فى قصب السكر - سُمًّا يرتبط ببروتين يوجد فى الأغشية الخلوية لخلايا قصب السكر، وهو تفاعل يؤدى إلى ظهور واستجابة القابلية للإصابة. ولكن فى حالات أخرى كثيرة نجد أن هذا التفاعل يؤدى إلى إنتاج استجابة المقاومة. وبذا .. فإنه بناء على نوع التفاعل الجزئى المؤدى إلى أى من استجابتى قابلية العائل للإصابة أو مقاومته، فإن علاقة الجين بالجين يمكن تقسيمها إلى مجموعتين رئيسيتين، هما: تفاعل عدم التوافق incompatible reaction، وتفاعل التوافق compatible reaction.

أولاً: تفاعل عدم التوافق

يحدث تفاعل عدم التوافق incompatible reaction (فى علاقة الجين بالجين) فى المسببات المرضية الإجبارية التطفل مثل الأصداء، وفيها تنتج آليلات المقاومة فى العائل (R) وآليلات عدم الضراوة avirulence فى المسبب المرضى (A) مركبات معينة تتعرف على بعضها البعض، وعندما تتفاعل معًا فإنها تقود إلى تفاعل مقاومة العائل. أما آليلات القابلية للإصابة (r) وآليلات الضراوة (a) فهى إما أنها تنتج تلك المركبات فى صورة معدلة، أو أنها لا تنتجها على الإطلاق. وبذا .. لا يمكن لنواتج الآليلات r، و a التعرف على بعضها البعض؛ ومن ثم لا يحـدث تفاعل بينهما، ويقود انعدام التفاعل بين نواتج جينات المقاومة والقدرة على إحداث الإصابة إلى ظهور تفاعل الإصابة فى العائل. ونتيجة لذلك، فإن ثلاثة من التوافقات الأربعة بين آليلى جين واحد للمقاومة بالعائل، وآليلى جين واحد للقدرة على إحداث الإصابة بالمسبب المرضى تقود إلى ظهور استجابة مرضية (جدول 4-17)، بينما يقود واحد فقط من التوافقات الأربعة إلى ظهور استجابة مقاومة، نظرًا لأن نواتج كلا من R1، و A1 سوف تتعرف على بعضها البعض وتتفاعل معًا. ومن الواضح أن هذا النظام يتشابه مع نظام عدم التوافق فى النباتات الراقية.

وكما أسلفنا .. فإن تفاعل عدم التوافق يحدث خاصة فى المتطفلات الإجبارية، ويكون مصاحبًا - عادة - باستجابة فرط الحساسية فى العائل. وتُثار استجابة فرط الحساسية بواسطة جزيئات خاصة تسمى مستحثات elicitors ينتجها المسبب المرضى، حيث تقوم جزيئات مقابلة للمستحثات - فى العائل - بالتعرف عليها؛ الأمر الذى تبدأ معه سلسلة طويلة من التفاعلات الكيميائية الحيوية تقود فى نهاية الأمر إلى إنتاج الفيتوألاكسينات phytoalexins، والإنزيمات المحللة أو البروتينات المثبطة الأخرى، ثم إلى الموت السريع للخلايا التى بدأ فيها المسبب المرضى غزوه للنبات.

وتعرف الفيتوألاكسينات بأنها مضادات حيوية ذات وزن جزيئى صغير من الفينولات المتعددة polyphenolics أو التربينات terpenoids، تنتج بواسطة الخـــلايا النباتية. هذا .. ويعرف أكثر من ثلاثين نوعًا من الفيتوألاكسينات التى تُنتجها النباتات. ويؤدى تراكم الفيتوألاكسينات عند موقع الإصابة إلى موت العائل فيها، ثم تعمل الخلايا الميتة كمستودع لتلك الفيتوألاكسينات.

جدول (4-17): حالات عدم التوافق (التى تحدث فى كثير من المسببات المرضية الإجبارية التطفل) والتوافق (التى تحدث فى كثير من المسببات المرضية من المتطفلات الاختيارية والرميات الاختيارية) لعلاقات الجين بالجين فى تفاعلات العائل مع المسبب المرضى. يفترض وجود جين واحد سائد للمقاومة وجين واحد متنح للضراوة (عن Singh 1993).

	جين الضراوة (أ)			
	عدم التوافق		التوافق	
جين المقاومة	A1	a1	A1	a1
R1	R(ب)	S	R	R
r1	S	S	R	S

أ - يتحكم الآليل (A) فى عدم الضراوة avirulence، بينما يتحكم الآليل a فى حالة الضراوة virulence، أما الحروف التحتية لهذين الآليلين (مثلاً .. A1، و a1) فإنها تشير إلى جينات المقاومة المقابلة لهما فى العائل.

ب - يمثل R تفاعل المقاومة، بينما يمثل S تفاعل الإصابة فى العائل.

إن المادة المستحثة التى ينتجها المسبب المرضى هى إما بروتين يتحكم فى إنتاجه جين عدم الضراوة (avr) أو نواتج للنشاط الأيضى لهذا البروتين. أما المستقبل الخاص لهذه المادة المستحثة فيتحكم فى إنتاجه جين المقاومة المقابل (R) فى العائل، الذى يحدد استجابة المقاومة للمسبب المرضى الذى يمتلك جين عدم الضراوة (avr) المقابل له.

ثانيًا: تفاعل التوافق

نجد فى حالة تفاعل التوافق **compatible reaction** أن آليلات القابلية للإصابة (r) فى العائل، وتلك الخاصة بالضراوة **virulence** (a) فى المسبب المرضى تنتج مركبات خاصة تتفاعل معًا لإنتاج استجابة الإصابة، هذا بينما يقود انعدام التفاعل بين نواتج كلا من r، و a إلى حدوث استجابة المقاومة. وتوجد هذه النوعية من علاقة الجين بالجين فى المتطفلات الاختيارية والرميات الاختيارية، كما يحدث فى لفحات أوراق هلمنثوسبوريم فى قصب السكر والذرة ولفحة فكتوريا فى الشوفان.

يُنتج آليل المقاومة فى العائل (R) مادة محورة تكون غير قادرة على التعرف على ناتج آليل الضراوة - الذى يُنتجه المسبب المرضى - أو التفاعل معه. وبالمثل .. فإن آليل عدم الضراوة فى المسبب المرضى يتحكم فى إنتاج مادة محورة (سُمّ غالبًا) لا تكون قادرة على التفاعل مع ناتج آليل القابلية للإصابة فى العائل. وتكون النتيجة أن ثلاثة من التوافقات الأربعة الممكنة بين آليلين لجين واحد للمقاومة وآليلين لجين واحد للقدرة على إحداث الإصابة تقود إلى إنتاج استجابة مقاومة، بينما يقود تفاعل واحد إلى إنتاج تفاعل إصابة (جدول 4-17؛ عن Singh 1993).

العوامل المؤثرة فى فاعلية جينات المقاومة ومسلكها الوراثى وتفاعلاتها مع جينات الضراوة

وجد أن لكل من جرعة آليلات الجين، ودرجة الحرارة، والخلفية الوراثية للأصناف المستعملة دورها فى فاعلية المقاومة، ومن الأمثلة على ذلك ما يلى:

1 - فى حالة البياض الزغبى فى الخس الذى يسببه الفطر **Bremia lactucae** وجد أن فاعلية مقاومة الجين R6 تتوقف على جرعة الآليلات، حيث ازدادت (قلّت شدة استعمار الفطر لأوراق النبات) فى هذا الاتجاه: Aa/Rr، ثم AA/Rr، ثم AA/RR.

2 - فى حالة صدأ الساق فى القمح الذى يسببه الفطر Puccinia graminis f. sp. tritici وجد أن جين المقاومة Sr6 الذى يقابله جين عدم الضراوة P6 حساس للحرارة، حيث يكون الجين Sr6 عديم الفاعلية فى حرارة 15°م ولا تظهر من أعراض المرض سوى نقاط متحللة flecks، ولكنه يكون غير فعال فى حرارة 24°م حيث تظهر أعراض مرضية على صورة بثرات يوريدية متوسطة الحجم.

3 - وفى دراسة أخرى على نفس حالة صدأ القمح وجد أن الجين Sr5 كان سائدًا فى الخلفية الوراثية لكل من الصنفين Kanred، و Reliance، وذات سيادة غير تامة فى الخلفية الوراثية للصنف W2929، ومتنحيًّا فى الخلفية الوراثية لكل من الصنفين W2691، و W3498.

4 - بينما لم يثبت وجود أى تأثير للخلفية الوراثية فى حالات التفاعل بين الكتان والفطر Melampsora lini المسبب لصدأ الكتان، فإن بعض التفاعلات كانت حساسة للحرارة. وعلى سبيل المثال .. فإن جين المقاومة L2 يعطى تفاعل مقاومة مع سلالة الصدأ J على حرارة 25°م، ولكنه يعطى تفاعل قابلية شديدة للإصابة فى حرارة 15°م، وذلك على خلاف الاتجاه الغالب من أن جينات المقاومة الحساسة للحرارة تكون - غالبًا - أقل فاعلية فى الحرارة العالية منها فى الحرارة المنخفضة.

5 - ومما يعقد صورة التفاعل (كما فى حالتى صدأ الكتان والبياض الزغبى فى الخس) وجود جينات مثبطة تتعارض مع نواتج التفاعلات بين جينات المقاومة وجينات عدم الضراوة؛ مما يقف عقبة أمام عملية التعرف بين تلك النواتج، وهو الذى يقود إلى تفاعل المقاومة؛ ليس هذا فقط، بل إن الجينات المثبطة قد تكون حساسة للحرارة العالية ولا يظهر فعلها تحت تلك الظروف (عن Strange 1993).

استخدام العوائل المفرقة فى تحديد وتمييز السلالات الفسيولوجية

عدد السلالات الفسيولوجية التى يمكن التعرف عليها

يتوقف عدد السلالات التى يمكن تحديدها والتعرف عليها على عدد جينات المقاومة المتاحة والمتواجدة فى عدد من أصناف أو سلالات العائل، وهى التى تعرف باسم الأصناف أو السلالات المفرقة **differentials**. وطالما أن كل جين للمقاومة يمكن أن يميز حالتين للتفاعل مع المسبب المرضى (تفاعل متوافق **compatible**) وآخر غير متوافق **incompatible**) فإنه يمكن - نظريًّا - تمييز عدد 2ن من السلالات، حيث ن هى عدد جينات المقاومة المتاحة.

وعمليًّا .. فإن تقسيم سلالات المسبب المرضى يعتمد كلية على مجموعة الأصناف والسلالات المفرقة المستخدمة؛ بما يعنى أن الاسم المعطى لأى سلالة لا يكون - أبدًا - نهائيًّا، ولكن إلى حين؛ إذ إن الجينات الأخرى للضراوة - أو لعدم الضراوة - التى قد تحملها تلك السلالة لا يمكن تحديدها إلا باختبار تلك السلالة على عدد أكبر من العوائل المفرقة التى تحتوى على عدد أكبر من جينات المقاومة، حيث قد يمكن تمييز ما كان يعد سلالة واحدة إلى سلالتين أو أكثر.

هذا وتميز - عادة - السلالات الفسيولوجية للفطريات على أساس محتواها من جينات الضراوة أى على أساس جينات المقاومة التى يمكنها التغلب عليها، بينما تميز السلالات الفسيولوجية للبكتيريا على أساس جينات عدم الضراوة، أى على أساس جينات المقاومة التى لا يمكنها التغلب عليها (عن **1992 De Wit**).

يتم اختيار الأصناف أو العوائل المفرقة أو المميزة على أساس مقاومتها للمسبب المرضى، إلا أن محتواها الجينى لا يكون - عادة - معروفًا.

وعند استخدام تلك الأصناف فى التمييز بين سلالات المسبب المرضى يكون من المفضل احتواء كل صنف على جين مختلف من جينات المقاومة الرأسية. ويُقدر عدد السلالات التى يمكن التمييز بينها بمقدار سن، حيث س تمثل عدد أنواع الاستجابات الممكنة للحقن بالمسبب المرضى، بينما تمثل ن عدد الأصناف المميزة المتوفرة. وعادة .. فإن العائل يستجيب للحقن إما بالمقاومة، وإما بالإصابة، وبذا .. تكون س بقيمة 2، ولكن قد تكون أعلى من ذلك إذا زاد عدد الاستجابات للحقن (أى إذا زادت ردود أفعال العائل) عن 2.

وتجدر الإشارة إلى أنه فى حالات عدم العلم بجين أو جينات المقاومة التى يحملها كل واحد من الأصناف المميزة، أو العلم بوجود أكثر من جين للمقاومة فى أى منها، فإن السلالات الفسيولوجية التى يميز بينها قد يتكون كل منها من أكثر من طراز باثولوجى **pathotype** واحد، ولكن عندما يحتوى كل صنف مميز على جين واحد للمقاومة تكون السلالات الفسيولوجية التى يميز بينها - فى واقع الأمر - طرزًا باثولوجية مختلفة (عن Singh 1993).

وبفرض أن الأصناف المفرقة تقسم - فقط - إلى مقاومة وقابلة للإصابة، فإن عدد السلالات التى يمكن التمييز بينها يكون - كما أسلفنا - 2ن، حيث ن هو عدد الأصناف؛ وبذا .. فإنه يمكن التمييز بين 22 = 4 سلالات عند استخدام جينين (صنفين) للمقاومة، و 32 = 8 سلالات عند استخدام 3 جينات (3 أصناف) للمقاومة، كما يتبين من جدولى (4-18)، و (4-19).

جدول (4-18): أنواع التفاعلات المرضية الممكنة عند توفر صنفين مميزين.

	سلالات المسبب المرضى (R)			
	عدم التوافق		التوافق	
الصنف (V)	R1	R2	R3	R4
V1	R	R	S	S
V2	R	S	R	S

R = مقاوم resistant، و S = قابلة للإصابة susceptible.

جدول (4-19): أنواع التفاعلات المرضية عند توفر ثلاثة أصناف مميزة.

	سلالات المسبب المرضى (R)							
الصنف (V)	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8
V1	R	R	R	S	S	S	S	R
V2	R	R	S	R	S	S	R	S
V2	R	S	R	R	S	R	S	S

R = مقاوم resistant، و S = قابلة للإصابة susceptible.

يتبين مما تقدم أن نوع رد الفعل الحادث يتوقف على توافيق الأصناف المميزة (جينات المقاومة) وسلالات المسبب المرضى المستخدمة. ومن البديهى أن السلالات التى تشترك معًا فى تفاعلاتها مع مجموعة الأصناف المميزة تكون مجرد عزلات isolates لسلالة واحدة. وعلى الرغم من اختيارنا للأصناف المميزة التى يمكنها التمييز بين أكبر عدد من سلالات المسبب المرضى، فإن مجموعة السلالات المميزة المستعملة قد يشترك بعضها فى جين واحد للمقاومة، وبديهى أن رد فعل الأصناف التى تشترك - معًا - فى جين واحد للمقاومة يكون متماثلاً مع مختلف سلالات المسبب المرضى. وتكون المجموعة المثالية من الأصناف المميزة هى التى يحمل كل صنف معها جينًا مختلفًا لمقاومة سلالة واحدة من المسبب المرضى، ذلك لأن الأصناف التى تحمل أكثر من جين للمقاومة لن يمكنها التمييز بين عديد من السلالات (عن Chahal & Gosal 2002).

نظم ترقيم أو ترميز السلالات الفسيولوجية

تتباين الطرق المتبعة لإعطاء الرموز، أو الأرقام لتمييز السلالات الفسيولوجية عن بعضها البعض كما يلى:

1 - تأخذ سلالات فطريات الذبول الفيوزارى أرقامًا متتابعة .. فمثلاً تعرف السلالات: 1، 2، 3 من الفطر Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici، وتعرف 12 سلالة - تأخذ الأرقام من 1 إلى 12 - من الفطر F. oxysporum f. sp. pisi.

2 - يرمز لسلالات الفطر Phytopthora infestans المسبب لمرض الندوة المتأخرة فى البطاطس بأرقام مركبة مثل: 1، و 1,2، و 1,2,3، و 1,2,3,4 ... إلخ.

3 - يرمز لسلالات الفطر Colletotrichum lindemuthianum المسبب لمرض الأنثراكتوز فى الفاصوليا بالحروف اليونانية ألفا α، وبيتا β، وجاما γ إلى تو τ.

4 - تأخذ سلالات الفطر Uromyces phaseoli فى الفاصوليا رموزًا يتكون كل منها من أحرف وأرقام (عن Dixon 1981).

كذلك يختلف الأساس الذى يقوم عليه ترميز التركيب الوراثى للسلالات القادرة على كسر المقاومة فى الفطريات - جذريًّا - عنه فى البكتيريا. ففى الفطريات تعطى جينات الضراوة القادرة على كسر المقاومة رمزًا يقابل رمز الجين أو الجينات التى يمكن لتلك السلالات التغلب عليها. وعلى العكس .. تعطى جينات الضراوة القادرة على كسر المقاومة فى البكتيريا رمزًا يقابل رمز الجين أو الجينات التى لا يمكن لتلك السلالات التغلب عليها، كما يظهر فى جدول (4-20؛ عن Pierre 1992).

أمثلة على استخدام العوائل المفرقة فى تمييز السلالات الفسيولوجية

نذكر - فيما يلى - بعض الأمثلة عن استخدام العوائل المفرقة فى تمييز السلالات الفسيولوجية للمسببات المرضية، وهى تعد بمثابة تطبيقات عملية لنظرية الجين للجين.

جدول (4-20): نظام تسمية السلالات الفطرية والبكتيرية حسبما إذا كانت قادرة على التغلب على جين أو جينات المقاومة فى عوائلها، والتفاعل الذى يحدث بين العائل والسلالة.

	السلالات الفطرية		السلالات البكتيرية	
التركيب الوراثى	سلالة 1	سلالة 2	سلالة 1	سلالة 2
للعائل	a1A2	A1a2	A1a2	a1A2
R1R1 r2r2	C	I	I	C
r1r1R2R2	I	C	C	I

C = تفاعل متوافق compatible؛ أى إن النبات قابل للإصابة.

I = تفاعل غير متوافق incompatible؛ أى إن النبات مقــاوم.

ملحوظة: فى هذا المثال .. اعتبر العائل ثنائى التضاعف أصيل والمسبب المرضى أحادى المجموعة الكروموسومية، علمًا بأنه تحدث التفاعلات ذاتها الموضحة فى الجدول إذا ما كان العائل سائدًا خليطًا فى أى من جينى المقاومة.

أولاً: الأمراض الفطرية

1 - المقاومة لمرض الصدأ الأصفر فى القمح:

يسبب الفطر Puccinia striformis مرض الصدأ الأصفر فى القمح، الذى تعرف له تسعة أصناف مفرقة يحتوى كل منها على عامل (جين) مختلف للمقاومة (جدول 4-21).

جدول (4-21): عوامل المقاومة للفطر Puccinia striformis (المسبب لمرض الصدأ الأصفر فى القمح) فى الأصناف المفرقة.

عامل المقاومة	الجين	الصنف المفرق
1	1	Chinese 116
2	2	Heine VII
3	3a + 4a	Vilmorin 23

تابع جدول (4-21):

عامل المقاومة	الجين	الصنف المفرق
4	3b + 4b	Hybrid 46
5	5	Thiticum spelta album
6	6	Heines kolbein
7	7	Lee
8	8	Compair
9	9	Riebesl 47/51

وتبعًا لنظرية الجين للجين فإن قدرة الطفيل على إصابة صنف ما تتوقف على احتوائه على عامل (جين) للضراوة يقابل أى عامل (جين) للمقاومة فى العائل، ويكون موجها ضده. فأى صنف يحمل عامل المقاومة R1 لا يصاب إلا بسلالة - أو سلالات - الفطر التى تحمل عامل الضراوة (جدول 4-22).

جدول (4-22): علاقة الجين بالجين فى أصناف القمح والفطر Puccinia striformis المسبب لمرض الصدأ الأصفر (عن Parry 1990).

		السلالات المفترضة للفطر وعوامل V										
أصناف القمح		K	J	I	H	G	F	E	D	C	B	A
	عوامل R	1,2,3,4,5,6,7,8,9	1,2,3,4,6	9	8	7	6	5	4	3	2	1
أصناف مفرقة												
Chinese 166	1	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Heine V11	2	S	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Vilmorin 23	3	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R
Hybrid 46	4	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
Triticum spelta album	5	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R
Heines Kolben	6	S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R
Lee	7	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
Compair	8	S	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
Riebesel 47/51	9		R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
أصناف أخرى												
Galahad	1	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S
Brock	7	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
Slejpner	9	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
Norman	2,6	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R

R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	1,2,4	Fenman
R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	1,2,6	Longbow

وبذا .. يمكن تحديد عوامل المقاومـــة التى يحملها أى صنف جديـد من القمح. فمثلاً .. يتضح من الجدول أن الصنف Galahad قابل للإصابة بسلالات الفطر A، و J، و K التى تحتوى جميعها على عامل الضراوة V1، وبذا .. فإن هذا الصنف لابد أن يكون حاملاً لعامل المقاومة R1. أما الصنف الذى يحمل عدة عوامل للمقاومة .. فإنه لا يصاب إلا بالسلالة (أو السلالات) التى تحتوى على عوامل الضراوة المقابلة لجميع عوامل المقاومة. وبسبب انتشار زراعة الأصناف التى يحمل كل منها عدة عوامل للمقاومة نجد أن سلالات الفطر التى تنتشر على نطاق واسع هى التى تحمل كل منها عدة عوامل للضراوة مثل السلالة J، بينما يقل كثيرًا انتشار السلالات التى تحمل عاملاً واحدًا للضراوة مثل السلالات A إلى I.

أما السلالات الفائقة Super races - مثل السلالة K - فإنه يقل انتشارها كذلك نظرًا لحملها لعديد من عوامل الضراوة التى لا تعد ضرورية لإصابة عديد من الأصناف الأخرى التى تنتشر فى الزراعة.

2 - المقاومة لمرض التفحم المغطى فى القمح:

تستخدم ثلاثة أصناف للتفريق بين ثمانى سلالات من الفطر Tilletia cares المسبب لمرض التفحم Bunt كما فى جدول (4-23).

جدول (4-23): استخدام الأصناف المفرقة فى التمييز بين سلالات الفطر Tilletia cares المسبب لمرض التفحم Bunt فى القمح.

	الاستجابة لسلالة الفطر رقم(أ)							
الصنف	1	2	3	4	5	6	7	8
Martin	R	R	R	S	R	S	S	S
Selection 403	R	R	S	R	S	R	S	S
Tukey	R	S	R	R	S	S	R	S

(أ) S = قابل للإصابة، و R = مقاوم.

3 - المقاومة لمرض البياض الزغبى فى الخس

يعد مرض البياض الزغبى فى الخس الذى يسببه الفطر Bremia lactucae من الأمثلة البارزة على سرعة ظهور سلالات الفطر الفسيولوجية القادرة على كسر المقاومة، وعلى نظرية الجين للجين؛ فما أن ينتج المربى صنفًا جديدًا مقاومًا من الخس وتنتشر زراعته على نطاق واسع، إلا وينتج الفطر - فى أربع سنوات - سلالة جديدة قادرة على كسر مقاومة ذلك الصنف؛ وبذا .. تعددت الأصناف المقاومة، وتعددت سلالات الفطر التى اكتشفت فى مناطق مختلفة من العالم دون دراية بحقيقة العلاقة بينها؛ مما أدى إلى اختلاط الأمور. وظل هذا الوضع قائمًا إلى أن أجريت دراسات مفصلة لاختبار آليلية جينات المقاومة، ومدى القرابة بين سلالات الفطر، والعلاقة بين العائل والطفيل.

وتبعًا لـ Ryder (1986) .. فقد أنتج أكثر من 120 صنفًا من الخس ذات مقاومة متخصصة (رأسية) لسلالات معينة من البياض الزغبى خلال الفترة من 1925 إلى 1985. كما ذكر Ilott وآخرون (1988) وجود نحو 13 جينًا سائدًا لمقاومة البياض الزغبى فى الخس، بالإضافة إلى جينات أخرى لم يمكن التعرف عليها وتحديد علاقتها بالجينات الأخرى بعد. ويبين جدول (4-24) العلاقة بين جينات المقاومة (Dm) فى العائل وجينات الضراوة فى الفطر.

جدول (4-24): عوامل الضراوة Virulence القادرة على التغلب على المقاومة التى توفرها مختلف جينات المقاومة (Dm) فى بعض أصناف الخس الأمريكية (عن Ryder 1986).

جين المقاومة (Dm)	الأصناف الحاملة له	سلالات الفطر (جينات الضراوة) التى:	
		لا يمكنها إحداث الإصابة	يمكنها إحداث الإصابة
صفر	Empire, Ithaca, White Boston	لا توجد	صفر
5	Valmaine	4-1 ، 11-6	5
6	Grand Rapids	5-1 ، 11-7	6
7	Vanguard 75, Mesa 659	6-1 ، 11-8	7
8	Valverde, Valrio, Valtemp	7-1 ، 11-9	8
8 + 7	Salinas, Calmar, Montemar	6-1 ، 11-9	8 + 7

4 - المقاومة للندوة المتأخرة فى البطاطس:

يعرف فى البطاطس 12 جينًا لمقاومة سلالات الفطر المسبب للندوة المتأخرة تأخذ الرموز R1، و R2 ... إلخ حتى R12، ولقد عرفت طرزًا باثولوجية قادرة على التغلب على كل جين منها (جدول 4-25).

5 - المقاومة لمرض البياض الزغبى فى القرعيات:

أظهر اختبار استعملت فيه عديد من عزلات الفطر **Pseudoperonospora cubensis** (حُصل عليها من بقع موضعية لإصابات الفطر فى مناطق مختلفة من العالم) فى عدوى 26 صنفًا تنتمى إلى 13 نوعًا وتحت نوع من 7 أجناس من العائلة القرعية .. أظهر هذا الاختبار وجود خمسة طرز باثولوجية من الفطر أمكن تمييزها بالعوائل المفرقة كما هو مبين فى جدول (4-26).

جدول (4-25): تقسيم للطرز الباثولوجية **pathotypes** للفطر **Phytophthora infestans** مبنى على أساس تفاعلها مع 12 عائل مميز من أصناف البطاطس يحمل كل منها جينًا مختلفًا للمقاومة (من R1 إلى R12) (عن Singh 1993).

جين المقاومة فى	الطراز الباثولوجى للفطر											
العوائل المميـــــزة	P(1)	P(2)	P(3)	P(4)	P(5)	P(6)	P(7)	P(8)	P(9)	P(10)	P(11)	P(12)
R1	S											
R2		S										
R3			S									
R4				S								
R5					S							
R6						S						
R7							S					
R8								S				
R9									S			
R10										S		
R11											S	
R12												S

ملحوظة: لم يُظهَر بالجدول سوى تفاعلات القابلية للإصابة (S). يمكن التعرف على الطرز الباثولوجية المركبة التى تحمل أكثر من جين واحد للضراوة (مثل P(1,2) أو P(1,5,8,12) بضراوتها على جينات العائل المقابلة لها (R1, R2، و R1, R5, R8, R12 على التوالى). ويعنى تفاعل القابلية للإصابة للعائل أن الطراز الباثولوجى يعد قادرًا على إصابته virulent، بينما يعنى تفاعل المقاومة أن الطراز الباثولوجى غير قادر على إصابته avirulent.

ثانيًا: الأمراض البكيترية

1 - المقاومة لمرض اللفحة الهالية فى الفاصوليا:

يبدو أن بالبكتيريا Pseudomonas syringae عدة جينات تتحكم فى القدرة على إحداث الإصابة فى العوائل التى تُصاب بها، كما تتحكم فى تفاعلها مع غير عوائلها. وعلى سبيل المثال .. فإنه اكتشفت فى البكتيريا P. syringae pv. phaseolicola - مسبب مرض اللفحة الهالية فى الفاصوليا - مجموعة من جينات القدرة على إحداث الإصابة أعطيت الرمز hrp، ووجد أنها تُحمل فى منطقة كروموسومية قدرت بنحو 20kb ويشار إليها بالاسم hrp cluster؛ هذه الجينات تتحكم فى قدرة البكتيريا على إصابة الفاصوليا، وفى حث استجابة فرط الحساسية فى غير عوائلها (عن Lindgren وآخرين 1988).

جدول (4-26): الطرز الباثولوجية المقترحة لعزلات البكتيريا Pseudoperonospora cubensis المتحصل عليها من مناطق مختلفة من العالم (Thomas وآخرون 1987).

	العزلة (الدولة)				
العائل	C1 (اليابان)	C2 (اليابان)	M1، و M2 (اليابان)، و 83، و 85 (إسرائيل)	C (الولايات المتحدة)	T (الولايات المتحدة)
Cucumis sativus	+	+	+	+	+
C. melo var. reticuatus	+	+	+	+	+
C. melo var. conomon	-	+	+	+	+
C. melo var. acidulus	-	-	+	+	+
Citrullus lanatus	-	-	-	+	+
Cucurbita spp.	-	-	-	-	+

+ : التفاعل شديد التوافق (شدة ظهور الأعراض المرضية)، - : التفاعل ضعيف أو معدوم التوافق (اختفاء أو ضعف الأعراض المرضية).

ويوضح جدول (4-27) تطبيق نظرية الجين للجين في أصناف الفاصوليا وسلالات البكتيريا P. syringae pv. phaseolicola.

2 - المقاومة لمرض اللفحة البكتيرية فى البسلة (جدول 4-28):

جدول (4-27): علاقة الجين بالجين فى أصناف الفاصوليا وسلالات البكتيريا Pseudomonas syringae pv. phaseolicola (عن Vivian وآخرين 1997).

صنف الفاصوليا						سلالة P. syringae pv. phaseolicola								
						1	2	3	4	5	6	7	8	9
	جين عدم الضراوة					1	.	.	.	1	.	1	.	1
						.	2	.	2	2	.	2	.	.
						.	.	3	3	.	.	.	.	.
						.	.	.	.	4	.	.	.	.
	جين المقاومة					.	5	.	.	.	.	.	5	5
Canadian Wonder	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A52 (ZAA54)	.	.	.	4	.	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Tendergreen	.	.	3	.	.	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Red Mexican UI3	1	.	.	4	.	-	+	+	+	-	+	-	+	-
1072	.	2	.	.	.	+	-	+	-	-	+	-	+	+
A53 (ZAA55)	.	.	3	4	.	+	+	-	-	-	+	+	+	+
A43 (ZAA12)	.	2	3	4	5	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Guatemala 196-B	1	.	3	4	.	-	+	-	-	-	+	-	+	-

S

S = قابل للإصابة، و R = مقاوم، و . = الجين غائب.

جدول (4-28): علاقة الجين بالجين فى أصناف البسلة وسلالات البكتيريا Pseudomonas syringae pv. pisi (عن Vivian وآخرين 1997).

							سلالة P. syringae pv. pisi						
							1	2	3	4	5	6	7
							1	.	.	.	.	.	.
							.	2	.	.	2	.	2
	جين عدم الضراوة						3	.	3	.	.	.	3
	جين المقاومة						4	.	.	4	4	.	4
							.	.	.	.	5	.	.
صنف البسلة							6?	.	.	.	6?	.	.
Kelvedon Wonder	.	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+	+	+
Early Onward	.	2	.	.	.	.	+	-	+	+	-	+	-
Belinda	.	.	3	.	.	.	-	+	-	+	+	+	-
Hurst Greenshaft	.	.	.	4	.	6?	-	+	+	-	-	+	-
Partridge	.	.	3	4	.	.	-	+	-	-	-	+	-
Sleaford Triumph	.	2	.	4	.	.	-	-	+	-	-	+	-
Vinco	1	2	3	.	5	.	-	-	-	+	-	+	-
Fortune	.	2	3	4	.	.	-	-	-	-	-	+	-

S = قابل للإصابة، و R = مقاوم، و . = الجين غائب.

3 - المقاومة لمرض اللفحة البكتيرية فى الأرز (جدولا 4-29، و 4-30):

جدول (4-29): جينات المقاومة للبكتيريا Xanthomonas campestris pv. oryzae المسببة لمرض اللفحة البكتيرية فى الأرز، وتفاعلاتها مع السلالات الفيليبينية من البكتيريا (عن Kush 1992).

الجين	الكروموسوم الحامل له	التفاعل مع السلالات الفيليبينية من البكتيريا (أ)					
		1	2	3	4	5	6
Xa-1	4	S	S	S	S	S	S
Xa-2	4	S	S	S	S	S	S
Xa-3	11	R	R	R	R	R	S
Xa-4	11	R	S	S	MR	R	S
xa-5	5	R	R	R	MR	R	S
Xa-7	--	R	R	R	S	R	S
xa-8	--	R	R	R	R	R	S
Xa-10	11	S	R	S	S	R	S
Xa-11	--	S	S	S	S	S	S
Xa-12	4	S	S	S	S	S	S
xa-13	5	S	S	S	R	R	R
Xa-14	--	S	S	S	S	R	S

أ : R = مقاوم resistant، و S = قابل للإصابة susceptible، و MR = متوسط المقاومة moderately resistant.

جدول (4-30): مجموعات الأرز الصنفية مصنفة حسبما تحمله من جينات المقاومة للفحة البكتيرية، وتفاعلاتها مع السلالات الفيليبينية من البكتيريا (عن Kush 1992).

المجموعة الصنفية	جين أو جينات المقاومة	التفاعل مع السلالات الفيليبينية من البكتيريا					
		1	2	3	4	5	6
Java 14	Xa-3	R	R	R	R	R	S
TKM 6	Xa-4	R	S	S	MR	R	S
DZ 192	xa-5	R	R	R	MR	R	S
CAS 209	Xa-10	S	R	S	S	R	S
BJ 1	xa-5 + xa-13	R	R	R	R	R	R
Mand Ba	Xa-4 + Xa-10	R	R	S	MR	R	S
DV 85	xa-5 + Xa-7	R	R	R	MR	R	S

ثالثًا: الأمراض الفيروسية

1 - المقاومة لفيرس موزايك الطماطم فى الطماطم:

يعد فيرس موزايك الطماطم ToMV من أكثر فيروسات الطماطم شيوعًا، وهو فيرس رنا ينتقل ميكانيكيًّا، ويعد قريبًا جدًّا من فيرس موزايك التبغ TMV. وتُعرف خمس سلالات من الفيرس يمكن تمييزها بتفاعلاتها مع أربعة تراكيب وراثية من الطماطم (جدول 4-31).

جدول (4-31): العلاقة بين جينات المقاومة فى الطماطم وسلالات فيرس موزايك الطماطم.

	سلالات فيرس موزايك الطماطم				
التركيب الوراثى للطماطم	0	1	2	1.2	22
(+/+)	S	S	S	S	S
Tm1/Tm1	T	S	T	S	R
Tm2/Tm2	R	R	S	S	R
Tm22/Tm22	R	R	R	R	S

+/+ : تركيب وراثى برى لا يجمل أى جينات للمقاومة.

S : قابل للإصـابـة، و T : متحمــل، و R : مقـــاوم.

يعد الجين Tm22 أهم جينات المقاومة لفيرس موزايك الطماطم، وقد استخدم على نطاق واسع فى أصناف الطماطم التجارية. هذا .. وبينما يمنع الجين Tm1 تكاثر الفيرس، فإن الجين Tm2 يمنع حركة الفيرس، أما المقاومة التى يتحكم فيها الجين Tm22 فإنها تعتمد على أحداث معينة يتعرف خلالها ناتج الجين على الفيرس، وليس على وظائف خاصة ببروتين حركة الفيرس المعروف باسم 30-kDa movement protein (عن Spence 1997).

هذا .. وتعطى التراكيب الوراثية الخليطة (كما فى الأصناف الهجين) تفاعلات مع مختلف سلالات الفيرس تختلف عما سبق بيانه فى جدول (4-31)؛ فمثلاً:

أ - يعطى التركيب الوراثى +/Tm1 تفاعل تحمل للمقاومة مع السلالتين 0، و 2، وتفاعل قابلية للإصابة مع السلالتين 1، و 1.2.

ب - يعطى التركيب الوراثى +/Tm2 تفاعل فرط حساسية (تحلل جهازى) مع السلالتين 0، و 1، وتفاعل قابلية للإصابة مع السلالتين 2، و 1.2.

جـ - يعطى التركيب الوراثى +/Tm22 تفاعل فرط حساسية مع جميع سلالات الفيرس.

د - يعطى التركيب الوراثى Tm1/Tm2 تفاعل مقاومة مع السلالتين 0، و 2، وتفاعل فرط حساسية مع السلالة 1، وتفاعل قابلية للإصابة مع السلالة 1.2.

هـ - يعطى التركيب الوراثى Tm2/Tm22 تفاعل مقاومة مع السلالات 0، و 1، و 2 وتفاعل فرط حساسية مع السلالة 1.2 (عن Stevens & Rick 1986).

2 - المقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا العادى فى الفاصوليا:

يمكن تمييز 10 سلالات (طرز باثولوجية pathotypes) من فيرس موزايك الفاصوليا العادى bean common mosaic virus باستعمال الأصناف المفرقة من الفاصوليا (جدول 4-32). ومن بين تلك السلالات العشر فإن خمسًا [هى: NL1/US1، و NL7،و US5 (Florida)، و US2 (NY15)، و NL4/US5 (Mexican)] لا تحدث تحللاً، وأربع [هى: NL2، و NL6، و US3 (Idaho)، و US4 (Western)] تحدث تحللاً يعتمد على درجة الحرارة. أما السلالات NL3، و NL5، و NL8 فهى تحدث تحللاً لا يعتمد على درجة الحرارة.

تقسم أصناف الفاصوليا المفرقة لسلالات الفيرس إلى مجموعتين رئيسيتين تحتوى أصناف إحداهما على الجين I، بينما لا تحتوى أصناف المجموعة الأخرى عليه. ولقد وجدت 11 مجموعة مقاومة، وكانت السلالتان IVT7214، وIVT7233 مقاومتين لسلالات الفيرس العشر، كما وجدت علاقة جين بالجين بين جينات المقاومة المتخصصة bc-1، و bc-12، و bc-2، و bc-22 وبين السلالات التى تنتمى إلى نفس الرقم الكودى (عن Hall 1991).

جدول (4-32): المجموعات الباثولوجية pathogenicityy groups لفيرس موزايك الفاصوليا العادى BCMV، وجينات المسبب المرضى pathogens وسلالاته strains، والأصناف المفرقة differential cultivars وجينات المقاومة (عن Hall 1991).

			المجموعة الباثولوجية للفيرس									
			BCMV Pathogenicity Group									
			I	II	III	IV	V		VI		VII	
			جين الفيرس BCMV Pathogene									
			P0	P1	P2	P1.12		P1.2	P1.12.2			P1.12.22
			سلالات الفيرس BCMV Straina									
مجموعة							NL6					
المقاومة			NL1				US3					NL4
بالفاصوليا	الأصناف المفرقة	جينات المقاومة	US1	NL7	NL8	US5	US4	US2	NL2	NL3	NL5	US6
أصناف مفرقة												
بدون الجين I												

+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ b		Dubbele Witte	1
											Sutter Pink	
											Stringless Green Refugee	
+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	bc-u,c bc-1	Imuna	2
											Redlands Greenleaf C	
											Puregold Wax	
+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	bc-u, bc-12	Redlands Greenleaf B	3
											Great Northern UI 123	
-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	bc-u, bc-2	Michelite 62	4
											Sanilac	
											Red Mexican UI 34	
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	bc-u, bc-1, bc-2	Pinto UI 114	5

6	Great Northern UI 31	bc-u, bc-12, bc-22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	Monroe											
	Red Mexican UI 35											
7	IVT 7214	bc-u, bc-2, bc-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
أصناف مفرقة												
بها الجين I												
8	Widusa	I	-	-	+n	-	±n	-	±n	+n	+n	-
	Black Turtle Soup 1											
9	Top Crop	bc-1, I	-	-	-n	-	±n	-	±n	+n	+n	-
	Improved Tendergreen											
	Jubila											
10	Amanda	bc-12, I	-	-	-n	-	±n	-	-	±n	+n	-

	-	-n	-n	-	-	-	-	-n	-	-	bc-u, bc-12, bc-22, I	IVT 7233	11

a : السلالات US1، و US2، و US3، و US4، و US5، و US6 هى - على التوالى - السلالات New York 15، و Idaho، و Western، و Florida، و Mexican.

b: + = قابل للإصابة مع موزايك جهازى، و - = مقاوم وبدون أى أعراض جهازية، و n+ = قابل للإصابة مع ظهور تحلل موضعى بالعروق وتحلل جهازى لا يعتمد على درجة الحرارة، و n± = قابل للإصابة مع ظهور تحلل جهازى يعتمد على درجة الحرارة، حيث يزداد عدد النباتات التى يظهر بها تحلل جهازى مع ارتفاع درجة الحرارة، أما التحلل الموضعى فيكون قليلاً أو معدومًا، و –n = مقاوم بدون أى تحلل جهازى، ولكن مع ظهور بقع موضعية متحللة صغيرة جدًّا.

c: bc-u = جين متنح غير مرتبط بسلالات معينة، و bc-1، و bc-12، و bc-2، و bc-22، و bc-3 جينات متنحية ترتبط بسلالات معينة، و I = جين سائد لا يرتبط بسلالات معينة.

3 - المقاومة لفيرس إكس البطاطس فى الباطس:

لقد درست جيدًا التفاعلات التى تحدث بين مختلف عزلات (سلالات) فيرس إكس البطاطس (PVX) وجينات المقاومة فى البطاطس: Nb، و Nx، و Rx (جدول 4-33). إن جميع سلالات الفيرس (باستثناء سلالة من أمريكا الجنوبية تعرف باسم PVXHB) تُقَابَل بمقاومة قصوى فى البطاطس الحاملة للجين Rx، بينما تُحدث بقع متحللة محلية فى Gomphrena globosa. أما السلالة PVXHB فإنها تُحدث إصابة جهازية فى البطاطس الحاملة للجين Rx، وتصيب G. globosa دون تكوين لبقع (عن Spence 1997).

جدول (4-33): استجابة سلالات فيرس إكس البطاطس (PVX) لجينات المقاومة للفيرس فى البطاطس.

التراكيب الوراثية للبطاطس	مجموعة 1 (DX)	مجموعة 2 (CP2)	مجموعة 3 (UK3)	مجموعة 4 (CP4)	سلالة HB
Nx, Nb, rx	HR	HR	HR	S	S
nx, Nb, rx	HR	HR	S	S	S
Nx, nb, rx	HR	S	HR	S	S
nx, nb, Rx	ER	ER	ER	ER	S

HR: فرط الحساسية، و S: قابلية للإصابة، و ER: مقاومة قصوى.

رابعًا: الأمراض النيماتودية

تختلف الأنواع النباتية كثيراً فى طرق تطفلها، وتعد أكثر طرز التطفل النيماتودى بدائية هى تلك التى تبقى فيها النيماتودا خارج النبات (ectoparasites) وتتغذى بدفع رمحها إما فى خلايا البشرة كما فى حالة النوعين Trichodorus، و Tylenchorhynchus، وإما فى الخلايا التى تليها كما فى حالة النوعين Rotylenchus، و Xiphinema.

وفى المقابل فإن النيماتودا الداخلية التطفل (endoparasitic) تدخل بأجسامها كليًّا أو جزئيًّا فى الأنسجة النباتية لتتغذى وتكمل دورة حياتها، وتكون بعض أنواعها مهاجرة migratory مثل النوعين: Pratylenchus، و Radopholus، بينما تبقى أنواع أخرى ساكنة فى مكانها sedentary وتتغذى على عدد محدود من خلايا الجذر التى تمر بتحورات كبيرة، كما فى كل من نيماتودا تعقد الجذور .Meloidogyne spp (حيث تتكون الخلايا العملاقة)، ونيماتودا الحوصلات Globodera .spp، و .Heterodera spp (حيث تتكون خلايا الـ syncytia). تتشكل هذه الخلايا المحوَّرة المغذية للنيماتودا من النسيج الوعائى للنبات وتبقى دائمة بفعل إفرازات المرئ esophagal secretions التى تحقنها النيماتودا، وتعد ضرورية لتطور النيماتودا وتكاثرها.

كذلك يتفاوت عدد عوائل الأنواع النيماتودية المختلفة تفاوتًا كبيرًا؛ فنجد - مثلاً - أن مدى عوائل النيماتودا الخارجية التطفل يكون كبيرًا غالبًا، بنما نجد أن النيماتودا الداخلية التطفل تكون غالبًا أكثر تخصصًا، مثل تخصص .Globodera spp على الباذنجانيات، و Heterodera avenae على محاصيل الحبوب. هذا إلا إنه قد تحدث تباينات كبيرة جدًّا فى الجنس الواحد كما فى حالة نيماتودا تعقد الجذور؛ فبينما يصل عدد عوائل M. incognita إلى 3000 نوع نباتى فإن النوعين .M megatyla، و M. pini لا يصيبان سوى الصنوبريات .Pinus spp.

كذلك تُحدد سلالات النيماتودا على أساس قدرتها على التكاثر على نباتات معينة (أجناس مختلفة) لعدد من العوائل المفرقة. وعلى سبيل المثال .. وجدت تباينات كبيرة جدًّا فى مدى عوائل سلالات النيماتودا Ditylenchus dipsaci؛ مما سمح بتمييز 30 سلالة.

وقد وضع المصطلح طراز باثولوجى pathotype للإشارة إلى عشيرة نيماتودية يمكنها التكاثر على تركيب وراثى معين من نوع نباتى ما، بينما لا يمكن لعشائر نيماتودية أخرى من نفس النوع أن تتكاثر على ذلك التركيب الوراثى النباتى. ومن الأمثلة على ذلك النظام الدولى القياسى الذى وضع لتمييز خمسة طرز باثولوجية من Globodera rostochiensis وثلاثة من G. pallida باختبار قدرتها على التكاثر على سبع سلالات من أنواع مختلفة من الجنس Solanum (عن Castagnone-Sereno 2002).

ولقد وجدت المقاومة للنيماتودا وأدخلت فى الأصناف الزراعية - أساسًا - بالنسبة للنيماتودا الشديدة التخصص، مثل:

Meloidagyne **Heterodera** **Globodera**

Ditylenchus **Tylenchulus** **Rotylenchulus**

وجميع هذه النيماتودا تبقى ساكنة داخل عوائلها بعد إصابتها لها (أى إنها sedentary endoperasitic).

وقد تكون المقاومة فعالة ضد جميع الأنواع النيماتودية التى تتبع جنسًا معينًا، أو ضد عدد من أنواع الجنس الواحد، أو ضد نوع واحد، أو ضد بعض الطرز أو السلالات التى تندرج تحت نوع ما.

وبالنسبة للمقاومة للنيماتودا الأقل تخصصًا، مثل النيماتودا التى تتحرك داخل عوائلها بعد إصابتها لها (الـ migratory endoparasitic) من الجنسين: Aphelenchoides، و Pratylenchus، فإنها قد طورت فى حالات قليلة فقط.

أما بالنسبة للنيماتودا الخارجية التطفل ectoparasitic، فإنه لم تُطَوَّر مقاومة لها فى الأصناف التجارية إلاّ فى حالات معدودة، مثل المقاومة للنيماتودا Xiphinema فى العنب (عن Roberts 2002).

ونلقى - فيما يلى - مزيدًا من الضوء على بعض الأنواع النيماتودية الهامة:

1 - نيماتودا تعقد الجذور:

يعرف نحو 50 نوعًا من نيماتودا تعقد الجذور .Meloidogyne spp، لكن 99% من عينات نيماتودا تعقد الجذور التى جمعت من مختلف أنحاء العالم كانت من 4 أنواع رئيسية هى:

Meloidogyne incognita	**M. javanica**
M. arenaria	**M. hapla**

تنتشر الأنواع الثلاثة الأولى فى المناطق الحارة التى يكون معدل درجة الحرارة القصوى فيها 36ْم أو أقل، بينما يوجد النوع الرابع فى المناطق الباردة التى يصل فيها انخفاض الحرارة إلى 15ْم تحت الصفر، لكنها لا تنتشر إلاّ فى المناطق التى يكون معدل الحرارة القصوى فيها 27ْم أو أقل، وهى التى تبعد عن خط الاستواء بأكثر من 35 ْم شمالاً أو جنوبًا.

وبدارسة 662 عينة من نيماتودا تعقد الجذور من مختلف أنحاء العالم وجد أنها كانت موزعة على الأنواع والسلالات المختلفة كما يلى (عن Taylor وآخرين 1982).

النوع	السلالة	النسبة
M. incognita		46.68
	غير محددة السلالة	4.23
	1	32.18
	2	4.53
	3	4.83
	4	0.91
M. javanica		39.73
M. arenaria		6.65
	1	0.30

	2	6.34
M. hapla		6.19
M. exigua		0.45
M. chitwoodi		0.15
M. oryzae		0.15

وتميز سلالات النيماتودا بستة عوائل مفرقة كما هو مبين فى جدول (4-34). وتجدر الإشارة إلى أن سلالات النيماتودا تميز باستعمال أنواع محصولية مختلفة، وليس باستخدام أصناف مختلفة لمحصول واحد، كما فى حالات السلالات الفسيولوجية من الفطريات والبكتيريا. ولمزيد من التفاصيل عن هذا الموضوع .. يراجع Taylor & Sasser (1978)، و Hadisoeganda & Sasser (1981).

جدول (4-34): التمييز بين سلالات وأنواع الجنس Meloidogyne باستخدام العوائل المفرقة (عن Taylor وآخرين 1982).

نوع النيماتودا	الاستجابة للنيماتودا فى الأنواع المحصولية (أ، ب)					
والسلالة	القطن	التبغ	الفلفل	البطيخ	الفول السودانى	الطماطم
M. incognita						
سلالة 1	R	R	S	S	R	S
سلالة 2	R	S	S	S	R	S
سلالة 3	S	R	S	S	R	S
سلالة 4	S	S	S	S	R	S
M. javanica	R	S	R/S	S	R	S

M. arenaria						
سلالة 1	R	S	S	S	S	S
سلالة 2	R	S	R/S	S	R	S
M. hapla	R	S	S	R	S	S

(أ) أعطيت شدة الإصابة درجات على مقياس من صفر إلى 5، واعتبرت شدة إصابة صفر، 1، 2 مقاومة (R)، و 3، و 4، و 5 قابلة للإصابة (S). أما R/S فتعنى أن أيًّا من الحالتين ممكنة.

(ب) استخدمت الأصناف التالية من مختلف المحاصيل:

المحصول	الصنف
القطن	Deltapine 16
التبغ	NC 95
الفلفل	California Wonder
البطيخ	Charleston Gray
الفول السودانى	Florunner
الطماطم	Rutgers

وتعرف سلالتان - على الأقل - من نيماتودا تعقد الجذور M. incognita قادرتين على إصابة الطماطم الحاملة لجين المقاومة Mi، هما:

1 - السلالة الطبيعية التى تعرف باسم natural virulent، وهى سلالة تتواجد فى الأراضى الزراعية بصورة طبيعية، فهى لم تتكون نتيجة لضغوط انتخابية عليها (بسبب زراعة الطماطم المقاومة فى تلك الأراضى)، وربما كان ظهورها نتيجة تعرض عشائر النيماتودا الطبيعية لجينات مقاومة خلال مراحل تطورية لها فى أزمنة سابقة. تتميز هذه السلالة بقدرتها على التكاثر على الطماطم المقاومة بنفس كفاءة تكاثرها على الطماطم القابلة للإصابة.

2 - سلالة تتكون فى خلال 6-12 جيلاً من تعرض عشيرة النيماتودا لطماطم مقاومة. وعلى الرغم من السرعة التى تظهر بها تلك السلالة فإن كفاءتها فى التكاثر تكون منخفضة على الطماطم المقاومة، حيث لم تتعد - بعد 25 جيلاً من الانتخاب - 60% إلى 64% من كفاءة تكاثرها على الطماطم القابلة للإصابة.

ونظرًا لأن الأنواع الهامة من نيماتودا تعقد الجذور .Meloidogyne spp تتكاثر لاجنسيًّا بطريقة التكوين البكرى الإجبارى (يكون التكوين البكرى فى M. hapla اختياريًّا)، فإن التحليل الوراثى التقليدى القائم على الانعزالات المندلية لا محل له فيما يتعلق بالعوامل المتحكمة فى مدى العوائل والضراوة مقابل جينات المقاومة(عن Roberts 1995).

2 - نيماتودا حوصلات البطاطس (جدول (4-35):

حالات مرضية لا تخضع لنظرية الجين للجين

على الرغم من التسليم - على نطاق واسع - بصحة نظرية الجين للجين، فقد اكتشفت حالات لم تنطبق عليها تلك النظرية، كما يلى

1 - وجد أنه فى التفاعل بين السلالة رقم واحد من الفطر Cochliobolus carbonum وجين الذرة المقاوم Hm1 أن جين المقاومة هذا يكون قادرًا على إنتاج بروتين يمكنه وقف سمية مركب ينتجه المسبب المرضى يكون ضروريًّا للضراوة.

وتكون التفاعلات الممكنة، كما يلى:

التركيب الوراثى للعائل	التركيب الوراثى للمسبب المرضى	رد الفعل
R-	V-	مقاومة
R-	vv	مقاومة
rr	V-	إصابة
rr	vv	مقاومة

جدول (4-35): ترميز كلا من Kort وآخرين (A)، و Canto-Saenz & de Scurrah (B) لسلالات نيماتودا حوصلات البطاطس من كل من النوعين Globodera rostochiensis (أعطيت الرمز العام R)، و G. pallida (أعطيت الرمز العام P) (عن Phillips 1994).

	الطراز الباثولوجى											
السلالة المميزة	:A	R01	R02	R03	R04	R05	Pa1	Pa2	Pa3			
	:B	R1A	R2A	R3A	R1B		P1A	P4A	P5A	P1B	P3A	P2A
S. tuberosum subsp. tuberosum		±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S. tuberosum subsp. andigena CPC 1673		-	+	+	-	+	+	+	+			
S. kurtzianum 60.21.19		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+

S. vernei GLSK 58.1642/4		-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
S. vernei 62.33.3		-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-
S. vernei 65.346/19		-	-	-	-	-	+	+	+			
S. multidissectum		+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-

+ إصابة أو - مقاومة.

وتلك التفاعلات هى بعكس التفاعلات التى أسلفنا الإشارة إليها فى المثال الكلاسيكى لصدأ الكتان، والذى كان المرض يظهر فيه حتى فى وجود جين عدم الضراوة متى وجد الجين r الخاص بالقابلية للإصابة. فالجين السائد الخاص بالمقاومة لصدأ الكتان يكون بغير ذى فائدة - فى الواقع - نظرًا لأن جين الضراوة الخاص بالمسبب المرضى يؤدى إلى ظهور المرض دائمًا، وحتى أن آليل عدم الضراوة يحدث المرض كذلك. ولكن نجد فى مثال الذرة أعلاه أن جين الضراوة - فقط - (وهو سائد) هو الذى ينتج المرض، وأن هذا يحدث - فقط - فى غياب جين المقاومة من العائل.

يعرف نوع آخر من التفاعل فى الذرة بين سيتوبلازم تكساس العقيم الذكر cms-T والسلالة T من الفطر Bipolaris maydis، وفيه يُحدِّد الآليل السائد فى العائل مدى حساسيته لآليل الضراوة السائد فى المسبب المرضى، وهو الذى يلزم لحدوث المرض، ويتحدد التفاعل النهائى بوجود آليل الحساسية فى العائل، والذى يؤدى غيابه إلى عدم تمكن آليل الضراوة فى الفطر من إحداث الأعراض المرضية، كما يلى:

التركيب الوراثى للعائل	التركيب الوراثى للمسبب المرضى	رد الفعل
S-	V-	إصابة
S-	vv	مقاومة
ss	V-	مقاومة
ss	vv	مقاومة

وحال وجود قدر كبير من الخصوصية فى التفاعل - كما فى حالات مرضية معينة - فإن الأمر يتطلب التعرف على سلالات المسبب المرضى التى يتكون منها اللقاح ليمكن دراسة وراثة المقاومة فى العائل. وكمثال على ذلك .. تعرف سلالتان: α، و β من الفطر المسبب للأنثراكنوز فى الفاصوليا، علمًا بأن السلالة α تصيب الصنف Robust، بينما تصيب السلالة β الصنف White Marrow فقط. ويختلف تأثير السلالتين على كل من الجيلين الأول والثانى للتلقيح ما بين هذين الصنفين كما يتبين من جدول (4-36). يُستدل من الجدول أنه باختبار أى من السلالتين (α، أو β) تكون المقاومة بسيطة، بينما يستدل من اختبار السلالة الـ avirulent على وجود جينين سائدين للمقاومة (15 مقاوم:1 قابل للإصابة)، ومن اختبار السلالتين α، و β معًا على أن الجينين يتفاعلان معًا بصورة مكملة (9 مقاوم : 7 قابل للإصابة) (عن Chahal & Gosal 2002).

جدول (4-36): استجابة صنفا الفاصوليا White Boston، و Robust، وعشيرتا الجيلين الأول والثانى - للتهجين بينهما - لسلالتى فطر الأنثراكنوز α، و β (عن Chahal & Gosal 2002).

سلالات المسبب المرضى (وتركيبها الوراثى)	White Marrow (AAbb)	Robust (aaBB)	الجيل الأول (AaBb)	الجيل الثانى (مقاوم : قابل للإصابة)
Alpha (AAbb)	مقاوم	قابل للإصابة	مقاوم	3 : 1
Beta (aaBB)	قابل للإصابة	مقاوم	مقاوم	3 : 1
(AABB)عديمة الضراوة	مقاوم	مقاوم	مقاوم	15 : 1
Alpha + ِ Beta	قابل للإصابة	قابل للإصابة	مقاوم	9 : 7

الفصل الخامس

المقاومة الرأسية والأفقية والمستدامة

مقدمة

يعد Van der Plank مؤسس المدرسة الخاصة بالمقاومتين الرأسية والأفقية فى دراسة مشكلة التربية لمقاومة الأمراض، وله فى ذلك مؤلفان، هما: "أمراض النبات: الأوبئة والمقاومة" (1963)، "ومقاومة الأمراض فى النباتات" (1968، و 1984). وقد استعان Van der Plank بنتائج الأبحاث المنشورة عن مقاومة الأمراض فى النباتات، وبالحقائق المعروفة عن الكائنات المسببة للأمراض النباتية فى تطوير نظريته عن المقاومة الرأسية Vertical Resistance، والمقاومة الأفقية Horizontal Resistance.

وتبعًا لهذه النظرية .. فإن المقاومة تكون رأسية عندما يكون الصنف مقاومًا لسلالة أو لعدد محدود من سلالات الطفيل، بينما تكون المقاومة أفقية حينما يكون الصنف مقاومًا بنفس الدرجة - لجميع سلالات الطفيل. وتتراوح مستويات المقاومة الأفقية بين مستوى أفضل بقليل من القابلية للإصابة إلى مستوى أدنى بقليل من المقاومة الرأسية.

وقد ربط Van der Plank بين هذين النوعين من المقاومة وبين سرعة تكاثر الطفيل وانتشار المرض فى النباتات المزروعة، وكذلك مع سرعة ظهور سلالات جديدة من الطفيل، وفقد المقاومة، كما أسهب المؤلف فى بيان كيفية الاستفادة من كل نوع من المقاومة فى مختلف الظروف، ووسائل تحسين كل نوع من المقاومة، وطريقة تقييم الأصناف للمقاومة، واستعان فى شرح نظرياته بعديد من المعادلات الرياضية.

أما مبدأ المقاومة المستدامة sustainable resistance - أى تلك التى تحتفظ بفاعليتها لفترات طويلة durable resistance - فهو أمر حديث نسبيًّا، ويحظى - فى الوقت الحاضر - بقدر كبير من اهتمام مربى النباتات.

مفهوم المقاومة الرأسية والأفقية

لتوضيح مفهوم طرازى المقاومة الرأسية والأفقية نأخذ - كمثال - المقاومة للفطر Phytophthora infestans المسبب لمرض الندوة المتأخرة فى البطاطس، وهو مرض يدخل ضمن تلك التى أطلق عليها Van der Plank اسم الأمراض ذات الفائدة المركبة Compound Interest Diseases (أى التى تزداد فيها سرعة انتشار الوباء بنسبة متزايدة تشبه الفائدة المركبة) كما تكثر فى هذا المرض السلالات الفسيولوجية للمسبب المرضى، وجينات المقاومة فى العائل.

جينات المقاومة الرأسية ونظام تسمية وتمييز سلالات المسبب المرضى

لم يكن يعرف - حتى عام 1953 - سوى أربعة جينات رئيسية Major Genes لمقاومة الندوة المتأخرة فى البطاطس، وهى الجينات R1، و R2، و R3، و R4. وقد استخدمت هذه الجينات الأربعة فى تمييز 16 سلالة من الفطر P. infestsns المسبب للمرض، كما هو مبين فى جدول (5-1)، حسبما اقترح Black عام 1953.

وتبعًا لهذا النظام .. فإن أى صنف من البطاطس يكون قابلاً للإصابة بجميع سلالات الفطر P. infestans عندما لا يحمل أيًا من جينات R المسئولة عن المقاومة، أى عندما يكون تركيبه الوراثى rrrr (لأن البطاطس رباعية التضاعف، ولكن يشار إلى التركيب الوراثى الأصيل - من الآن فصاعدًا - برمز آليل واحد؛ أى يكون التركيب الوراثى: r). إلا أن الأمر يختلف عند وجود جينات R المسئولة عن المقاومة. فعندما يحمل الصنف الجين R1 .. فإنه يكون مقاومًا لجميع سلالات الفطر التى لا تحمل الرقم 1 (وهو رمز جين الضراوة - فى الفطر - القادر على كسر المقاومة التى يؤمنها الجين R1) وهى السلالات (0)، و (2)، و (3)، و (4)، و (2,3)، و (2,4)، و (3,4)، و (2,3,4)، بينما يكون الصنف ذاته قابلاً للإصابة بجميع سلالات الفطر التى تحمل الرقم 1، وهى: (1)، و (1,2)، و (1,3)، و (1,4)، و (1,2,3)، و (1,2,4)، و (1,3,4)، و (1,2,3,4).

كذلك فإنه عندما يحمل الصنف جينات المقاومة R1، و R3، و R4 فإنه يكون قابلاً جدول (5):

جدول (5-1): العلاقة بين جينات المقاومة (R-genes)، وسلالات الفطر *P. infestans* المسبب للندوة المتأخرة فى البطاطس.

	سلالة الفطر *P. infestans*															
التركيب الوراثى للعائل	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**1,2**	**1,3**	**1,4**	**2,3**	**2,4**	**3,4**	**1,2,3**	**1,2,4**	**1,3,4**	**2,3,4**	**1,2,3,4**
r	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
R_1	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S
R_2	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S
R_3	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S
R_4	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S
R_1 R_2	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S
R_1 R_3	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S
R_1 R_4	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S
R_2 R_3	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	S
R_2 R_4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S
R_3 R_4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S
R_1 R_2 R_3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S

S	**R**	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	R_1 R_2 R_4
S	**R**	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	R_1 R_3 R_4
S	**S**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	R_2 R_3 R_4
S	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	**R**	R_1 R_2 R_3 R_4

للإصابة بجميع سلالات الفطر التى تحمل الأرقام 1، و 3، و 4 (وهى رموز جينات الضراوة - فى الفطر - القادرة على كسر المقاومة التى تؤمنها الجينات R1، و R3، و R4 على التوالى) وهى السلالات (1,3,4) و (1,2,3,4)، ولكن يكون هذا الصنف مقاومًا لجميع السلالات الأخرى للفطر التى لا تحمل الأرقام (جينات الضراوة) 1، و 3، و 4 مجتمعة.

وعندما وضع هذا النظام لتحديد العلاقة بين سلالات الفطر P. infestans، وجينات المقاومة له فى البطاطس .. لم يكن يعرف سوى أربعة جينات فقط للمقاومة، ولكن جينات أخرى كثيرة اكتشفت بعد ذلك. فمثلاً .. كان يعرف تسعة جينات لمقاومة الفطر فى عام 1968، وكان هذا العدد - يسمح بتمييز 92 = 512 سلالة من الفطر. وقد أمكن بالفعل التعرف على معظم السلالات البسيطة، وعدد من السلالات المعقدة مثل: (1,2,3,4,5,6,7,8)، و (1,2,3,4,6,7,8,9).

وفى عام 1969 اكتشف جينان آخران ليصل إجمالى عدد جينات المقاومة الرأسية المعروفة آنذاك إلى أحد عشر جينًا، كان يقابلها أحد عشر جينًا للضراوة أعطيت الأرقام من 1 إلى 11؛ تبعًا لجين المقاومة الرأسية الذى يمكن لكل منها التغلب عليه. وقد اكتشفت سلالة معقدة من الفطر تحمل 10 جينات للضراوة، وهى السلالة (1,2,3,4,5,7,8,9,10,11).

وبينما يحمل عدد كبير من أصناف البطاطس جينًا واحدًا أو جينين للمقاومة الرأسية، فإن أصنافًا قليلة تحمل ثلاثة جينات أو أربعة، ولا توجد حاليًّا أية أصناف تحمل أكثر من هذا العدد من جينات المقاومة الرأسية. فمثلاً .. يحمل الصنف Pentland Dell الجينات R1، و R2، و R3، ولا تصيبه سلالة الفطر (4) بأية درجة يعتد بها. وقد أدخل هذا الصنف فى الزراعة فى بريطانيا فى عام 1961، وظل خاليًا من أية إصابة بالندوة المتأخرة حتى عام 1967 حينما ظهرت بعض الإصابات التى أعقبها وباء شديد للمرض فى عام 1968، وفى خلال هذين الموسمين .. ظهر على الصنف ما لا يقل عن 23 سلالة جديدة من الفطر المسبب للمرض، كان بعضها يحمل تسعة جينات للضراوة.

وجدير بالذكر أن معظم جينات R التى توجد فى البطاطس حُصِل عليها - على الأغلب - من النوع S. demissum السداسى التضاعف، وهى جينات لا تتحكم إلا فى مقاومة النموات الخضرية القوية فقط لسلالات الفطر P. infestans؛ ذلك لأن الدرنات قد تصاب بسلالات من الفطر لا تصيب النموات الخضرية، كما أن النموات الخضرية التى دخلت مرحلة الشيخوخة Senescence تفقد جزءًا من مقاومتها.

وبالرغم من أن هذا النظام يتميز بالمرونة التى تسمح بإضافة أية جينات جديدة للمقاومة الرأسية، وتمييز السلالات الجديدة من الفطر .. إلا أنه يؤخذ عليه أن السلالات التى تميز فى أى وقت تكون فى واقع الأمر خليطًا من عدد من السلالات التى لا يمكننا تمييزها عن بعضها بما هو متاح لنا من جينات للمقاومة.

فمثلاً .. لم يكن ممكنًا قبل اكتشاف الجينين R5، و R6 تمييز أية سلالة من الفطر قادرة على كسر مقاومتهما. وبذا .. فإن سلالة الفطر التى عُرِفت قبل اكتشاف هذين الجينين - على أنها (1,2,3,4) ربما كانت فى واقع الأمر هى هذه السلالة، أو أيًّا من السلالات: (1,2,3,4,5) أو (1,2,3,4,6) أو (1,2,3,4,5,6)، وهى سلالات أمكن تمييزها بالفعل بعد اكتشاف الجينين R5، و R6.

ومع استمرار اكتشاف مزيد من جينات المقاومة R-genes (وهى التى يتحصل عليها من النوع S. demissum) .. أصبحت المشكلة أكثر تعقيدًا، ثم ازدادت حدتها لدى اكتشاف جينات إضافية لمقاومة الفطر فى الأنواع S. stoloniferum، و S. bulbocastanum، و S. polytrichon وغيرها. وقد اقترح - لتحجيم المشكلة - قصر استخدام هذا النظام لتمييز سلالات الفطر على جينات المقاومة المتحصل عليها من S. demissum فقط، ولكن هذا الاقتراح لم يلق قبولاً لأنه ليس من المنطقى التفريق بين جينات المقاومة لنفس الفطر لمجرد اختلاف مصادرها.

وقد يكون من المفضل قصر استخدام هذا النظام على حالات الجينات القوية Strong R-genes فقط، لأن سلالات الفطر التى تكون قادرة على كسر مقاومة هذه الجينات لا تظهر بالفعل إلا بعد اكتشاف هذه الجينات، ونقلها إلى أصناف جديدة محسنة، وإدخال هذه الأصناف فى الزراعة على نطاق واسع. هذا بينما وجدت سلالات من الفطر قادرة على كسر مقاومة الجينات الضعيفة Weak R-genes قبل نقل هذه الجينات إلى الأصناف التجارية وإدخالها فى الزراعة. ومما يزيد من أهمية هذا الاقتراح لحسم مشكلة تعدد جينات المقاومة وتعدد سلالات الفطر أنه لا تعرف سوى ثلاثة جينات قوية فقط؛ هى: R1، و R2، و R3، أما بقية الجينات فتعد ضعيفة. وبذا فإن استخدام هذا النظام مع الجينات الأربعة فقط يسمح بتمييز ثمانى سلالات للفطر؛ هى: (0)، و (1)، و (2)، و (3)، و (1,2)، و (1,3)، و (2,3)، و (1,2,3). أما السلالات الأخرى للفطر .. فإنها تعتبر ضمن أى من السلالات التالية:

السلالة (0) حينما لا تحمل أيا من الأرقام 1، أو 2، أو 3 فى تركيبها.

السلالة (1) حينما لا تحمل أيا من الرقمين 2، أو 3 فى تركيبها.

السلالة (2) حينما لا تحمل أيا من الرقمين 1، أو 3 فى تركيبها.

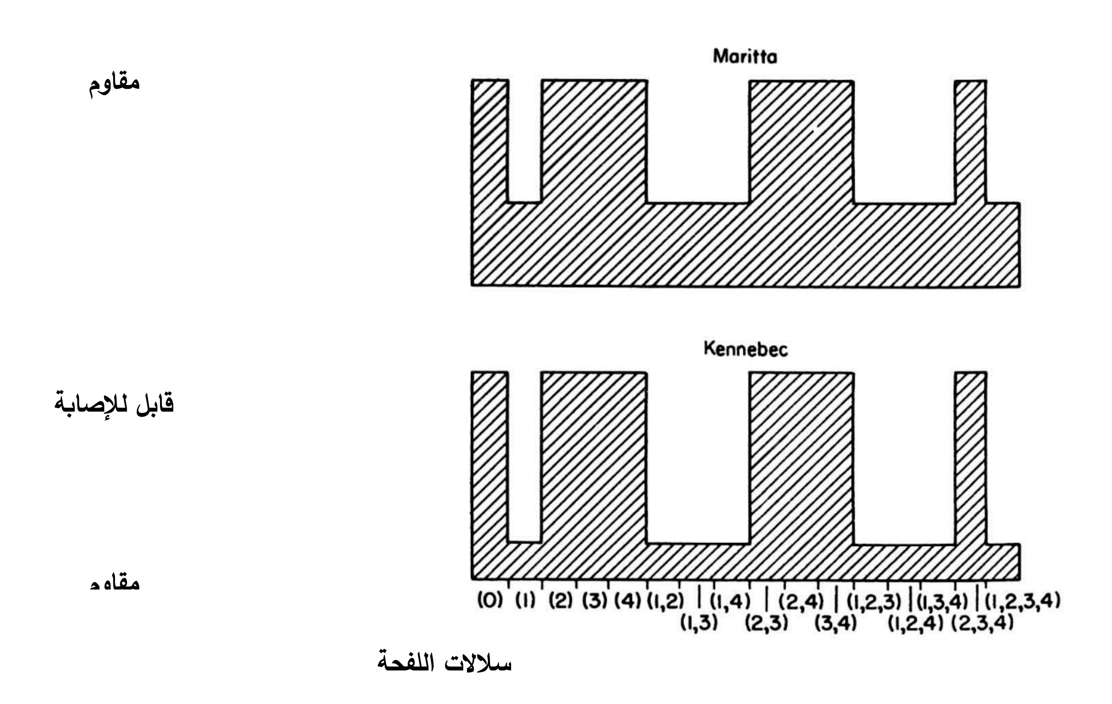
السلالة (3) حينما لا تحمل أيا من الرقمين 1، أو 2 فى تركيبها.

ويعد هذا الاقتراح - أو هذا التعديل - أفضل الخيارات المتاحة - ليمكن إتباع هذا النظام لتقسيم سلالات الفطر بكفاءة. وإذا اكتشف مستقبلاً جين قوى آخر .. فإن النظام يتسع - حينئذٍ - لتمييز 16 سلالة بعد نقل هذا الجين لأصناف جديدة، واستخدام هذه الأصناف فى الزراعة على نطاق واسع. ومما يدعم هذا التعديل لنظام السلالات أن كل ما يهمنا عملياً - هى السلالات القادرة على كسر مقاومة الأصناف المنتشرة بالفعل فى الزراعة.

مظهر المقاومة الرأسية والأفقية

كما سبق أن أوضحنا .. فإن المقاومة تكون رأسية عندما يكون الصنف مقاومًا لبعض سلالات الطفيل، وتكون المقاومة أفقية عندما يكون الصنف مقاومًا - بدرجة واحدة - لجميع سلالات الطفيل.

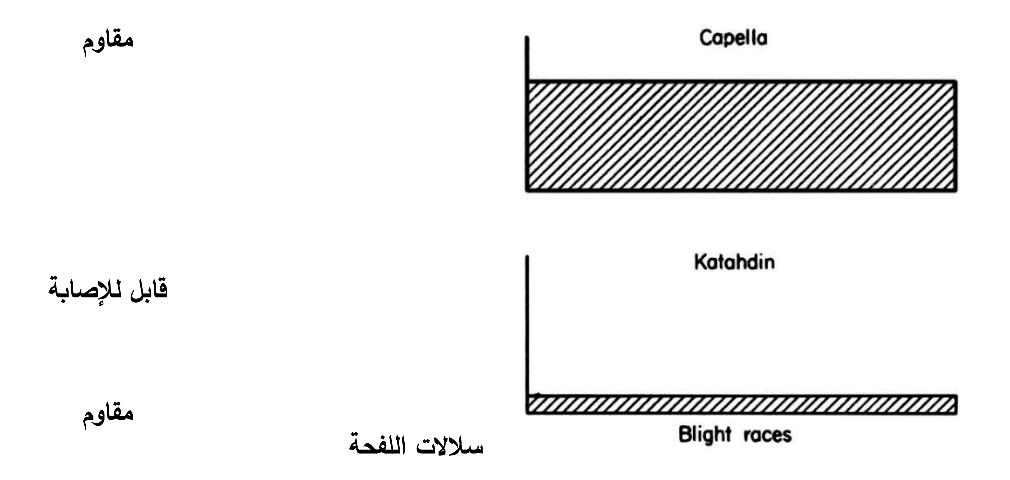
ويوضح شكل (5-1) الفرق بين نوعى المقاومة بالنسبة لصنفين من البطاطس هما: **Kennebec**، و **Maritta**. يحمل كلا الصنفين الجين **R1** المسئول عن المقاومة للفطر ***P. infestans***، يكسب هذا الجين النباتات الحاملة له مقاومة ضد سلالات الفطر: (0)، و (2)، و (3)، و (4)، و (2,3)، و (2,4)، و (3,4)، و (2,3,4). يتبين ذلك فى الشكل حيث نجد أن المقاومة لهذه السلالات تامة فى كلا الصنفين.



شكل (5-1):مظهر المقاومة فى صنفين من البطاطس يحملان الجين R1 للمقاومة الرأسية، ولكنهما يختلفان فى مستواهما من المقاومة الأفقية (يراجع المتن للتفاصيل).

أما بالنسبة لسلالات الفطر الأخرى (التى تحمل الرقم 1 الخاص بجين الضراوة المقابل لجين المقاومة R1) فإن الصنفين يختلفان فى درجة مقاومتهما، وإن كان كل منهما يحمل نفس المستوى من المقاومة لجميع هذه السلالات .. فنجد أن الصنف Kennebec يصاب بهذه السلالات بدرجة أكبر من إصابة الصنف Marritta، ويعنى ذلك أن الصنف الأخير يحمل مستوى أعلى من المقاومة الأفقية للندوة المتأخرة عن الصنف الأول.

ويوضح شكل (5-2): الحالة التى تكون عليها المقاومة فى الأصناف التى لا تحمل أية جينات للمقاومة الرأسية. ويتبين من الشكل أن الصنفين Capella، و Katahdin (وهما لا يحملان أية جينات للمقاومة الرأسية) يختلفان فى درجة مقاومتهما للندوة المتأخرة، ولكن كلاً منهما يصاب بنفس الدرجة - أو يحمل نفس الدرجة من المقاومة - لجميع سلالات الفطر.



شكل (5-2): مظهر المقاومة فى صنفين من البطاطس خاليان من المقاومة الرأسية ويختلفان فى مستواهما من المقاومة الأفقية.

يعد الصنف Katahdin قابلاً للإصابة بشدة تحت ظروف الحقل، وإذا كان الجو مناسبًا للإصابة، ولم يكافح المرض بالرش بالمبيدات .. فإن النموات الخضرية تموت بسرعة؛ مما يدل على أن المقاومة الأفقية التى توجد بهذا الصنف منخفضة (وبالرغم من ذلك .. فهو ليس أكثر الأصناف قابلية للإصابة).

أما الصنف Capella .. فهو كذلك لا يحمل أية جينات للمقاومة الرأسية، إلا أن مقاومته الأفقية عالية إلى درجة ربما تكون أعلى من المقاومة الأفقية التى توجد فى أى صنف تجارى آخر من البطاطس، حيث يلاحظ أن الإصابة بالندوة المتأخرة تتقدم فى هذا الصنف ببطء شديد حتى ولو كانت الظروف الجوية مناسبة للإصابة.

وتجدر الإشارة إلى أن أى صنف قد يخلو من المقاومة الرأسية، إلا أنه لا يعقل أن يخلو تمامًا من المقاومة الأفقية، فلا توجد المقاومة الرأسية بمفردها أبدًا. ولا يمكن للمرء أن يتخيل انعدام المقاومة الأفقية فى صنف ما؛ لأن ذلك يعنى أن الكائن المرضى يمكن أن تنتب جراثيمه، ويخترق خلايا بشرة العائل، وينمو، وينتج جراثيم جديدة كما لو كان ناميًّا على بيئة صناعية.

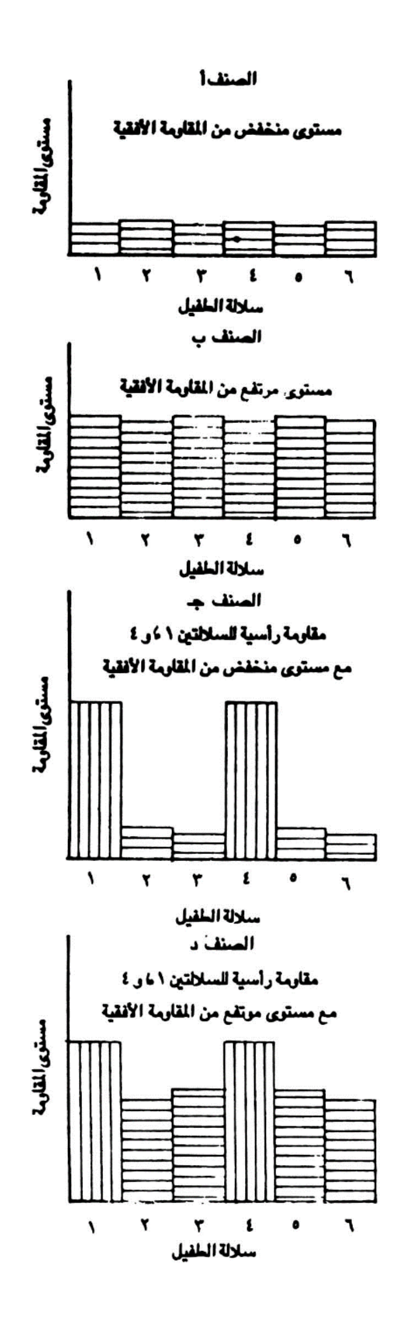
ويبين شكل (3-5) مثالاً افتراضيًا لمقاومة أصناف تختلف فى محتواها من المقاومة الرأسية، وفى مستواها من المقاومة الأفقية.

وتجدر الإشارة إلى أن المقاومة الأفقية تتوفر فى النبات قبل حدوث الإصابة بالمسبب المرضى، برغم أن تأثيرها لا يظهر إلا بعد تعرض النبات للإصابة. وعلى العكس من ذلك فإن المقاومة الرأسية لا تعمل إلا بعد التعرض للإصابة. فمثلاً .. نجد فى حالة مقاومة الندوة المتأخرة فى البطاطس أن جراثيم جميع سلالات الفطر المسبب للمرض تخترق أنسجة أوراق جميع الأصناف أيًّا كانت مقاومتها الرأسية، ولا يبدأ التمييز بين السلالات إلا بعد ذلك، حيث تظهر حالات فرط الحساسية ضد سلالات الفطر التى يقاومها الصنف بجينات المقاومة الرأسية المناسبة.

وراثة وطبيعة المقاومة الأفقية

تبعًا لـ Van der Plank فإن المقاومة الأفقية قد يتحكم فيها عدد محدود (Oligogenic)، أو عدد كبير (Polygenic) من الجينات، وهذه الجينات ليست خاصة بالمقاومة Non specialized resistance genes، وإنما توجد طبيعيًّا فى النباتات السليمة، وتتحكم فى العمليات الحيوية العادية (وبالمقارنة .. فإن المقاومة الرأسية يتحكم فيها جينات متخصصة فى المقاومة).

أما Abdallah & Hermsen (1971) .. فقد قسما المقاومة الأفقية - التى أطلقا عليها اسم المقاومة المتجانسة Uniform Resistance - إلى طرازين. ترجع المقاومة الأفقية فى أحد هذين الطرازين إلى جينات غير متخصصة Non-specialized genes، وهى جينات تتحكم أساسًا فى صفات نباتية أخرى غير المقاومة، ولكنها تسهم فى المقاومة بطريقة غير مباشرة. وينشأ هذا الطراز من المقاومة غالبًا فى عشائر العائل التى توجد فى مناطق منعزلة عن تلك التى يوجد فيها الطفيل بحالة مستوطنة. أما عن الطراز الثانى .. فيتحكم فيه جينات متعددة متخصصة فى المقاومة Specialized Polygenes ولكنها لا تكون متخصصة ضد سلالات من المسبب المرضى Race-non specific. وتتحكم هذه الجينات فى تمثيل المركبات المسئولة عن إكساب العائل خاصية المقاومة. ويعتقد أن هذا الطراز من المقاومة ينشأ فى عشائر العائل التى تنمو فى المناطق التى يتواجد فيها الطفيل بحالة مستوطنة.



شكل (5-3): مظهر المقاومة لأصناف افتراضية تختلف فى محتواها من المقاومة الرأسية وفى مستواها من المقاومة الأفقية.

وتعمل المقاومة الأفقية على تأخير ظهور الوباء epidemic، وذلك من خلال تأثيرها على ما يلى:

1 - تكون النباتات أكثر مقاومة لحدوث الإصابة infection، فمثلاً .. يظهر بأوراقها عدد من البقع المرضية أقل مما يظهر على أوراق النباتات التى تحمل درجة أقل من المقاومة الأفقية، حتى عندما يصل إلى كليهما نفس العدد من جراثيم الفطر.

2 - يكون التجرثم Sporulation (تكوين الجراثيم) أقل كلما زادت درجة المقاومة الأفقية.

3 - تزداد الفترة من بدء العدوى inoculation إلى بدء التجرثم كلما ازداد مستوى المقاومة الأفقية.

وكمثال على ذلك ما ذكره Russell (1972) بخصوص مقاومة بنجر السكر للفطر Peronospora farinosa f. sp. betae المسبب لمرض البياض الزغبى التى ترجع إلى مقاومة النبات لكل مما يأتى:

1 - إنبات الجراثيم الكونيدية على سطح الأوراق.

2 - عملية العدوى أو الحقن inoculation ذاتها.

3 - نمو الفطر فى أنسجة الورقة.

4 - عملية التجريم.

هذا .. فضلاً على تحمل النبات للإصابة. ويتحكم فى كل ذلك عوامل كمية.

كذلك وجد Russell أن مقاومة بنجر السكر لفيرس الاصفرار ترجع إلى ما يلى:

1 - مقاومة العائل للحشرة الناقلة للفيرس.

2 - المقاومة لعملية الحقن بالفيرس.

3 - قدرة العائل على تحمل الإصابة بالفيرس.

علمًا بأن كلاً من هذه الحالات يتحكم فيها نظام وراثى كمى أيضًا.

الضراوة الكمية Aggressiveness، والضراوة النوعية Virulence .. وراثتهما والعلاقة بينهما

تتضمن خاصية التطفل Pathogenicity كلا من مستوى ضراوة الطفيل، أو ضراوته الكمية Aggressiveness (قدرة سلالاته على التغلب على جينات المقاومة فى العائل) وضراوته النوعية Virulence؛ فجميع سلالات المسبب المرضى Pathogen تعد ممرضة Pathogenic، سواء أكانت هذه السلالات تتفاعل مع أصناف العائل، أم لا تتفاعل. وجدير بالذكر أن السلالات التى تختلف فى مستوى الضراوة الكمية لا تتفاعل مع أصناف العائل التى تختلف فى مستوى مقاومتها الأفقية، بينما تتفاعل السلالات التى تختلف فى ضراوتها النوعية مع أصناف العائل التى تختلف فى مقاومتها الرأسية.

هذا .. ولا يتوفر أى دليل على وجود ارتباط موجب بين الضراوة الكمية، والضراوة النوعية، ولكن قد يوجد ارتباط سالب بينهما؛ إذ إن زيادة الضراوة النوعية قد تؤدى إلى خفض الضراوة الكمية.

وعندما تكون الظروف البيئية مناسبة لزيادة شدة الإصابة بمرض ما، فإن المرء لا يمكنه الحكم على ما إذا كان سبب هذه الزيادة هو حدوث زيادة فى مستوى الضراوة الكمية للطفيل، أم أنه نقص فى مستوى المقاومة الأفقية للعائل تحت هذه الظروف.

وتورث الضراوة النوعية عادة كصفة بسيطة monogenic، أو كصفة يتحكم فيها عدد قليل من الجينات Oligogenic، بينما تورث الضراوة الكمية - عادة - كصفة يتحكم فيها عدد كبير من الجينات Polygenic. ومع ذلك فقد توجد حالات كمية من الضراوة النوعية - التى يتحكم فيها عدد كبير من الجينات - ولكن لم يُتعرف عليها بعد.

تأثير المقاومة الرأسية والأفقية فى تقدم الأوبئة

تأثير المقاومة الرأسية

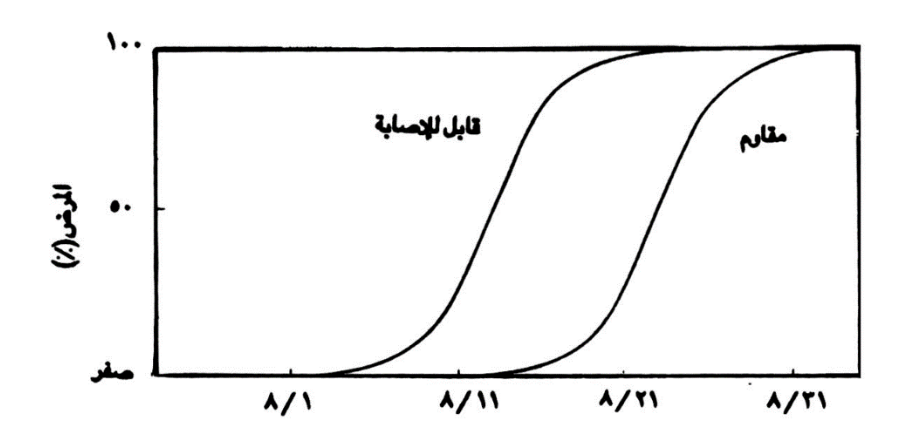
تقتصر مناقشتنا لهذا الموضوع على "الأمراض ذات الفائدة المركبة" Compound Interest Diseases التى تنتشر فيها الأوبئة بطريقة الربح المركب، وتسببها فطريات مثل Phytopthora infestans، و Puccinia graminis؛ ففى أمراض كهذه .. تؤدى المقاومة الرأسية إلى تأخير البداية الملحوظة للوباء، لأنها تخفض كمية اللقاح Inoculum الفعالة التى يبدأ منها الوباء، وتلك هى الفائدة الوحيدة للمقاومة الرأسية. ولنضرب - مثلاً على ذلك - المقاومة للندوة المتأخرة فى البطاطس.

نفترض وجود حقلين متجاورين من البطاطس، وينمو بأحدهما صنف لا يحمل أى جينات R للمقاومة الرأسية للندوة المتأخرة، بينما ينمو بالآخر صنف يحمل الجين R1، أى إنه يقاوم عدة سلالات من الفطر، وهى جميع السلالات التى لا تحمل الرقم 1 مثل (0)، و (2)، و (3)، و (4)، و (2,3) ... إلخ. فإذا افتراضنا أن 99% من سلالات الفطر التى تصل إلى الحقل هى من هذه السلالات .. كان معنى ذلك أن 99% من جراثيم الفطر لا تصيب إلا نباتات الصنف الأول الذى لا يحمل الجين R1، بينما الـ 1% الباقية من جراثيم الفطر التى تصل إلى الحقل تكون من سلالات مثل: (1)، و (1,2)، و (1,3)، و (1,4)، و (1,2,3) ... إلخ، ويمكنها إصابة كلا الصنفين. فبالنسبة لهذه السلالات الأخيرة .. يتساوى الصنف الحامل للجين R1 مع الصنف الخالى من جينات المقاومة الرأسية.

وبناء على ما تقدم .. فإن الإصابة تبدأ فى الصنف الخالى من المقاومة الرأسية بعدد من جراثيم الفطر يبلغ مائة ضعف عدد الجراثيم التى يمكن أن تصيب الصنف الحامل للجين R1. وبذا تكون المقاومة الرأسية قد خفضت اللقاح الأولى Initial Inoculum إلى 0.01 مما كان مقدرًا أن يحدث. وهذا اللقاح الأولى هو الذى يحدث الإصابات الأولية Initial Lesions، التى يبدأ منها الفطر فى التكاثر، والمرض فى الانتشار فى الحقل.

يستمر معدل الزيادة فى أعداد جراثيم الفطر بعد ذلك بنفس المستوى فى كلا الصنفين الخالى من المقاومة الرأسية، والحامل للجين R1، ولكن نظرًا لأن اللقاح الأولى يبلغ فى الصنف الحامل للجين R1 0.01 مما يكون فى الصنف الخالى من المقاومة الرأسية؛ لذا .. فإن البداية الملحوظة للوباء يتأخر ظهورها فى الصنف الحامل للجين R1 لفترة مساوية لتلك التى تلزم لمضاعفة اللقاح Inoculum مائة مرة. ويستفاد من ذلك أن خفض اللقاح يؤخر ظهور الوباء (شكل 5-4).

يفترض فى شكل (5-4) أن اللقاح الفطرى Fungal Inoculum وصل إلى الحقل فى النصف الثانى من شهر يوليو، إلا أن نسبة الإصابة كانت منخفضة جدًّا إلى درجة يصعب معها ملاحظتها فى الشكل. ففى هذا المثال .. يفترض أن النسبة المئوية لإصابة النموات الخضرية كانت 0.1% فى الصنف غير الحامل للمقاومة الرأسية، و 0.001% فى الصنف الحامل للجين R1، وتلك تقديرات تعادل - تقريبًا - بقعة مرضية واحدة بكل نبات فى الصنف الخالى من المقاومة الرأسية، وبقعة مرضية واحدة بكل 100 نبات من الصنف الحامل للجين R1.



شكل (5-4): تأثير المقاومة الرأسية على تقدم الوباء المرضى.

تعد هذه الأرقام قريبة من الواقع بدرجة كافية، إلا إنها منخفضة إلى درجة لا تسمح بتوضيحها على الرسم البيانى (شكل 5-4). ومع تقدم المرض .. فإنه يمكن تسجيله على الرسم ابتداء من أول أغسطس بالنسبة للصنف الخالى من المقاومة الرأسية، وبعد عشرة أيام أخرى فى الصنف الحامل للجين R1؛ أى إن المقاومة الرأسية أخرت بداية ظهور الوباء بمقدار عشرة أيام، وهو الوقت الذى لزم لزيادة عدد أجزاء الفطر القادرة على إحداث الإصابة Infective Propagules بمقدار مائة ضعف.

ويلاحظ من شكل (5-4): تشابه منحنيى تقدم المرض فى الصنفين تشابهًا تامًّا، مع استمرار تأخر منحنى الصنف الحامل للجين R1 بمقدار 10 أيام. وقد افترض - توخيًا للبساطة - أن معدل الإصابة Infection Rate كان ثابتًا فى الصنفين. ويستفاد من ذلك أن الجين R1 لم يبطئ من سرعة تقدم المرض بعد حدوث العدوى الأولية، ذلك لأن السلالات القادرة على إحداث المرض فى أى من الصنفين تنمو وتتكاثر وتتجرثم وتعاود الإصابة بنفس السرعة فى كليهما.

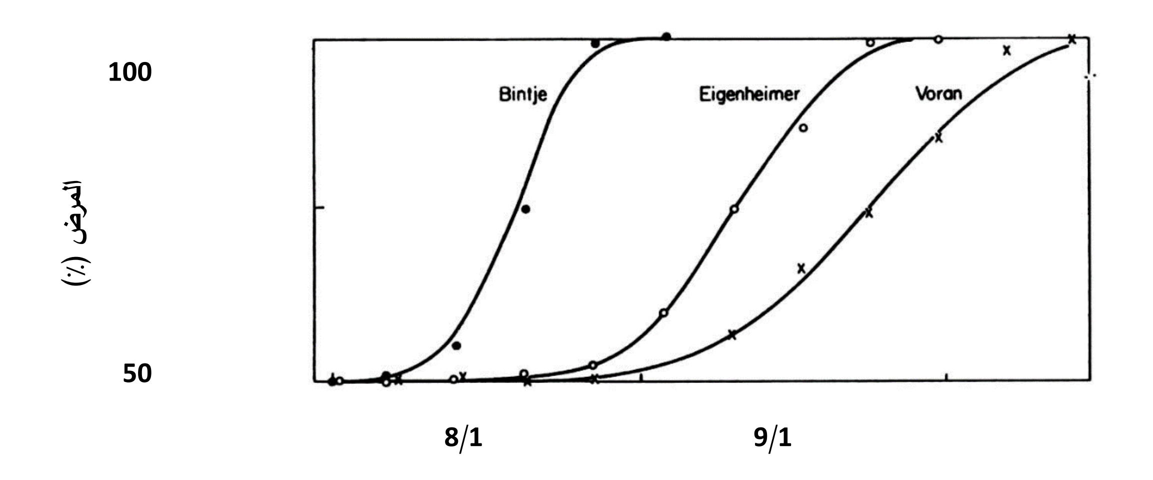
وتجدر الإشارة إلى أن الجين R1 يؤخر بدء ظهور الوباء بعدد من الأيام يتناسب عكسيًّا مع مدى توفر السلالات التى يمكنها إصابة الصنف الحامل لهذا الجين. فلو فرض مثلاً وزرع أحد أصناف البطاطس الحاملة للجين R1 لعدة سنوات فى نفس المنطقة .. فإن السلالات التى يمكنها إصابة هذا الصنف تصبح شائعة جدًّا إلى درجة أن اللقاح الأولى تزيد نسبته كثيراً عما فى المثال السابق، وبذا .. تقل كثيراً الفترة التى يتأخر فيها بدء ظهور الوباء. ومع استمرار زراعة الأصناف الحاملة لنفس جين المقاومة الرأسية يزداد انتشار السلالات القادرة على إصابة تلك الأصناف، وتقل كفاءة الجين بنفس المعدل إلى أن تنعدم فائدته تمامًا.

التأثير المتبادل للمقاومة الرأسية والضراوة النوعية Virulence

افترضنا فى المثال الموضح فى شكل (5-4) أن 1% فقط من جراثيم الفطر كانت قادرة على إصابة الصنف الحامل للجين R1، وأن معدل الإصابة Infection Rate كان بالقدر الذى يساعد على بدء ظهور الوباء بعد 10 أيام. لكن .. لو فرض أن نسبة الجراثيم القادرة على إصابة هذا الصنف كانت 10% بدلاً من 1%، وأن معدل الإصابة ظل كما هو .. فإن التأخير فى بدء ظهور الوباء سينخفض إلى 5 أيام فقط. ولو ارتفعت نسبة الجراثيم القادرة على إصابة هذا الصنف إلى 50%، فإن التأخير فى بدء ظهور الوباء سيتقلص إلى يوم ونصف اليوم فقط. أما لو كانت جميع الجراثيم قادرة على إصابة الصنف .. فلن يحدث أى تأخير فى بداية ظهور الوباء. وبذا .. يتساوى الصنف الحامل للجين R1 مع الصنف الخالى منه.

يستدل مما تقدم على أنه كلما ازداد انتشار السلالات القادرة على أحداث الإصابة فى الأصناف ذات المقاومة الرأسية (السلالات الـ Virulent على هذه الأصناف) قلت أهمية المقاومة الرأسية فى تأخير بداية ظهور الوباء. وفى المقابل .. فإن التوسع فى زراعة الأصناف ذات المقاومة الرأسية يعد السبب الرئيسى فى انتشار السلالات القادرة على كسر مقاومة هذه السلالات. أى إن الإقبال على زراعة صنف معين ذى مقاومة رأسية مرغوب فيها يؤدى تدريجيًّا إلى القضاء على مقاومة هذا الصنف وجميع الأصناف الأخرى التى تحمل نفس جينات المقاومة الرأسية.

على خلاف المقاومة الرأسية .. فإن المقاومة الأفقية لا تؤخر بداية ظهور الوباء، ولكنها تبطء تقدمه بعد أن يبدأ، ويتضح ذلك من المثال التالى المبين فى شكل (5-5).



شكل (5-5): تأثير المقاومة الأفقية على تقدم الوباء المرضى.

يظهر فى الشكل متوسطات تقدم الإصابة بالندوة المتأخرة فى 117 حقلاً مزروعة بثلاثة أصناف من البطاطس تتشابه فى خلوها من جينات المقاومة الرأسية R-genes، ولكنها تختلف فى مستوى مقاومتها الأفقية للمرض .. فالصنف فوران Voran يعد مقاومًا، بينما يعتبر الصنف إيجنهيمر Eigenheimer متوسط المقاومة، والصنف بنجى Bintje أكثرها قابلية للإصابة.

لم تستخدم المبيدات الفطرية لمقاومة المرض فى هذه الحقول، وكما هو مبين فى الشكل .. لوحظ أن الإصابة بدأت فى جميع الأصناف فى وقت واحد هو أول شهر يوليو، إلا أن سرعة تقدم المرض اختلفت كثيراً بين الأصناف؛ فبينما تقدمت الإصابة بسرعة كبيرة فى الصنف بنجى وأتت على جميع النباتات فى خلال شهر واحد، فإن تقدم الإصابة كان بطيئًا جدًّا فى الصنف فوران، بينما كان الصنف إيجنهيمر وسطًا بينها.

كان معدل تقدم المرض منخفضًا فى الصنف فوران مقارنة بالصنف بنجى، ويرجع ذلك إلى عدة أسباب، منها ما يلى:

1 - قلة عدد الجراثيم التى تتمكن من دخول المجموع الخضرى للنبات وتكون بقعًا مرضية.

2 - بطء تكون البقع المرضية.

3 - احتياج الفطر إلى وقت أطول لتكوين جيل جديد من الجراثيم.

4 - تكوّن عدد أقل من الجراثيم الجديدة.

وتجدر الإشارة إلى أن الأصناف الثلاثة - فى المثال السابق - تصاب بجميع سلالات الفطر، ولكن الاختلاف بينها يكون فى سرعة تطور المرض وسرعة تقدم الوباء. ونظرًا لأن المقاومة الأفقية تحد من إصابة النباتات؛ لذا .. فإنها تحد من كمية اللقاح الذى يبقى فى الدرنات المصابة - بالتربة - إلى الموسم التالى، أى إنها تؤخر - بطريقة غير مباشرة - من بدء ظهور الوباء فى الموسم التالى.

ولقد أثيرت بعض الاعتراضات على نظرية Van der Plank بشأن المقاومة الأفقية، ولكنها كانت منصبة على حالات مرضية خاصة .. فقد ذكر Crill وآخرون أن المقاومة غير ذات قيمة بالنسبة لمرض الذبول الفيوزارى فى الطماطم. كما اقترح Crill & Jones (1972) استخدام مصطلح قدرة التحمل العديدة الجينات Polygenic Tolerance بدلاً من مصطلح المقاومة الأفقية، لأن المصطلح الأول يصف - بشكل أفضل - حالات الإصابة بالذبول الفيوزارى فى أصناف مثل Rutgers، و Marglobe.

التأثير المشترك للمقاومتين الرأسية والأفقية

لو فرض وكانت نسبة الجراثيم القادرة على إصابة صنف يحمل الجين R1 هى 1% كما فى المثال المبين فى شكل (5-4)، ولكن كان معدل الإصابة Infection Rate نصف المعدل المفترض فى هذا المثال .. فإن ذلك يعنى تأخر ظهور الوباء بمقدار عشرين يومًا بدلاً من عشرة أيام، وهو ما يعنى تضاعف فاعلية المقاومة الرأسية. ويستدل من ذلك أن معدلات الإصابة العالية تخفض من فاعلية المقاومة الرأسية، بينما تزيد المعدلات المنخفضة من فاعليتها. وبرغم أن العوامل البيئية تلعب دورًا كبيرًا فى التأثير على معدل الإصابة، إلا أن المقاومة الأفقية تلعب دورًا أكثر أهمية فى هذا المجال، حيث تؤدى زيادة مستوى المقاومة الأفقية إلى خفض معدل الإصابة؛ الأمر الذى يزيد من فاعلية المقاومة الرأسية.

يوضح شكل (5-6) مثالاً افتراضيًّا لتأثير كل من المقاومتين الرأسية والأفقية على تقدم الوباء، حيث تظهر منحنيات تقدم المرض لأربعة أصناف (أ، ب، جـ د) كما يلى:

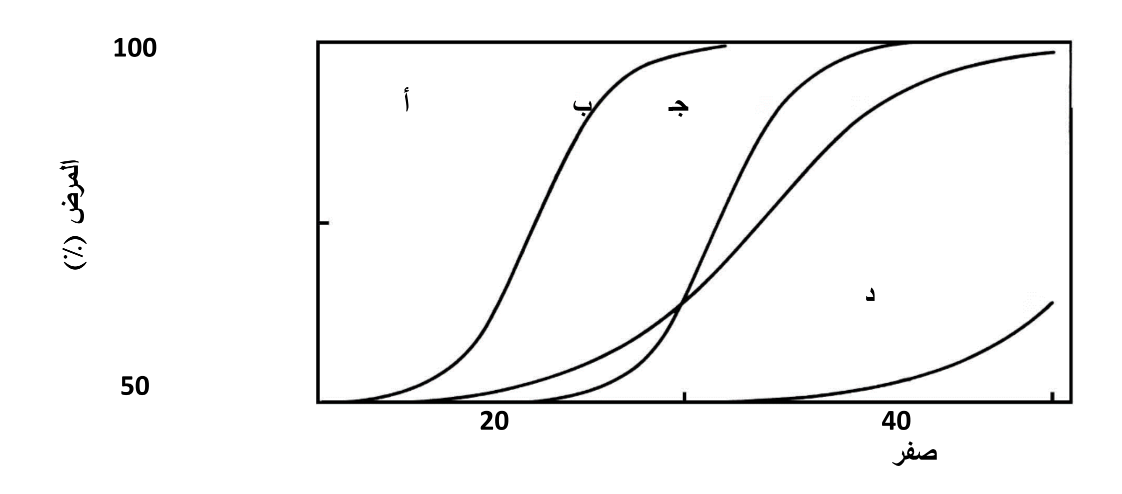
أ - لا يحمل أية جينات للمقاومة الرأسية، بينما يحمل مستوى منخفضًا من المقاومة الأفقية.

ب - يحمل مقاومة رأسية - تكفى لتأخير بداية ظهور الوباء بمقدار عشرة أيام - كما يحمل نفس المستوى المنخفض للمقاومة الأفقية الذى يوجد فى الصنف (أ).

جـ - لا يحمل أية جينات للمقاومة الرأسية مثل الصنف (أ)، ولكنه يحمل مستوى من المقاومة الأفقية أعلى مما فى الصنف (أ) إلى درجة تكفى لجعل معدل الإصابة Infection Rate نصف تلك التى تحدث فى الصنف (أ).

د - يحمل مقاومة رأسية مماثلة لتلك التى يحملها الصنف (ب)، كما يحمل مقاومة أفقية مماثلة لتلك التى يحملها الصنف (جـ).

يتضح من شكل (5-6) أن منحنيات تقدم الإصابة متشابهة فى الأصناف التى تحمل نفس المستوى من المقاومة الأفقية، فيتشابه منحنى الصنف (أ) مع (ب)، ومنحنى الصنف (جـ) مع (د)، ولكن فى حين تأخرت بداية ظهور الوباء بمقدار 10 أيام فى الصنف (ب) - مقارنة بالصنف (أ) - فإن ذلك التأخير كان بمقدار 20 يومًا فى الصنف (د) مقارنة بالصنف (جـ) - لأن المقاومة الأفقية التى توجد فى الصنف (د) خفضت معدل الإصابة إلى النصف، وضاعفت الوقت الذى لزم لزيادة اللقاح Inoculnm الذى خفضته المقاومة الرأسية التى يحملها هذا الصنف.



شكل (5-6): التأثير المشترك للمقاومتين الرأسية والأفقية على تقدم الوباء المرضى.

وخلاصة القول .. فإن الجمع بين المقاومة الأفقية والمقاومة الرأسية معًا فى صنف واحد يؤدى إلى جعله مقاومًا بدرجة عالية. ففى المثال السابق كانت المقاومة الرأسية للصنف (د) مماثلة للمقاومة الرأسية التى يحملها الصنف (ب)، كما كانت مقاومته الأفقية مماثلة لتلك التى يحملها الصنف (جـ)، ومع ذلك فقد كانت إصابة الصنف (د) متأخرة إلى درجة يصعب معها حدوث أى ضرر اقتصادى.

هذا .. ويتوقف مدى التأخير فى بداية ظهور الوباء على مدى فاعلية المقاومة الرأسية، كما يتوقف مدى التأخير فى تقدم المرض على مدى فاعلية المقاومة الأفقية، علمًا بأن كليهما يتوفر منهما عدد لا نهائى من المستويات. وبين Van der Plank (1968) الأساس الرياضى لطريقة رسم منحنى تقدم المرض فى مختلف حالات المقاومة.

التوازن بين المقاومة الرأسية والضراوة النوعية Virulence

ظهور السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية

لو استعنّا بالندوة المتأخرة فى البطاطس كمثال فى هذا الشأن .. لوجدنا أنه قد حدث توازن بين كل من البطاطس Solanum tuberosum والفطر المسبب للندوة المتأخرة P. infestans منذ زمن بعيد وقبل ظهور جينات المقاومة الرأسية R-genes.

ولكن .. مع ظهور المرض بحالة وبائية، واكتشاف جينات المقاومة الرأسية اعتقد البعض أنه سيمكن التخلص من هذا المرض إلى الأبد. وفعلاً .. لم يمكن اكتشاف أية نباتات مصابة بالندوة المتأخرة فى ألمانيا لعدة سنوات بعد إدخال الأصناف الحاملة للجين R1 فى الزراعة فى عام 1925. ولكن .. بدأ فى عام 1932 ظهور بعض حالات الإصابة بين النباتات الحاملة لهذا الجين؛ أى إن سلالات الفطر القادرة على إصابة النباتات الحاملة للجين R1 لم تكن موجودة أصلاً عندما أدخلت النباتات الحاملة لهذا الجين فى الزراعة، ولكنها ظهرت فى غضون نحو سبع سنوات من زراعتها. ومع استمرار زراعة هذه الأصناف .. فإنها فقدت مقاومتها تمامًا. وقد تكرر نفس الأمر لدى إدخال زراعة الأصناف الحاملة للجين R1 فى دول أخرى مثل الولايات المتحدة، وكندا، وهولندا. كما حدث نفس الشئ لدى زراعة أصناف تحمل جينات أخرى للمقاومة الرأسية مثل R2 و R3.

يستدل مما تقدم على أن السلالات ذات الضراوة النوعية Virulence الزائدة على الحاجة (أى القادرة على كسر المقاومة الرأسية لأصناف ليست مستخدمة فى الزراعة) لا يمكنها البقاء، وتظل نادرة الوجود - برغم القدرة الهائلة للفطريات على التطفر - ولا تظهر إلا عندما يكون الفطر فى حاجة إليها. وتدل ندرة السلالات على مدى قوة جينات المقاومة الرأسية، حيث تعد الجينات قوية Strong كلما ازدادت ندرة السلالات القادرة على التغلب على المقاومة التى توفرها هذه الجينات، كما تعد الجينات ضعيفة Weak حينما تكون السلالات القادرة على التغلب على المقاومة التى توفرها هذه الجينات غير نادرة.

ظاهرة الانتخاب المثبت Stabilizing Selection

يستفاد مما تقدم أن مجرد ارتفاع مستوى المقاومة الرأسية التى يحدثها جين ما يدل على ندرة السلالات القادرة على كسر هذه المقاومة، ولكن .. نظرًا لأن التطفر أمر سهل، لذا .. فإن السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية القوية لا تبقى نادرة إلا إذا وجدت قوة تبقيها على هذا الوضع، وكلما ازدادت هذه القوة .. ازدادت ندرة تلك السلالات، وكانت المقاومة الرأسية أشد. وتعرف هذه القوة باسم الانتخاب المثبت Stabilizing Selection.

يؤدى الانتخاب المثبت إلى الإبقاء على السلالات التى لا توجد بها ضراوة نوعية Virulence زائدة وغير ضرورية، وهى ظاهرة شائعة فى الطبيعة، وتفسر على أساس أن الطفرة التى تلزم لتجعل الفطر قادرًا على التغلب على المقاومة التى يوفرها أحد جينات المقاومة الرأسية تُحدث تغيرات فى النشاط البنائى للفطر، تجعله أقل قدرة على التطفل على النباتات التى لا تحمل هذه المقاومة الرأسية. وكلما ازدادت قوة المقاومة الرأسية ازداد البعد عن النشاط البنائى الطبيعى فى السلالة القادرة على كسر هذه المقاومة، وكانت هذه السلالة أقل قدرة على البقاء.

وتقدر قوة الجينات Strength of Genes بمدى القوة التى يعمل بها الانتخاب المثبت Stabilizing Selection ضد السلالات القادرة على كسر المقاومة التى توفرها كل من هذه الجينات. فمثلاً يعتبر الجين R1 فى البطاطس من الجينات القوية، لأن الانتخاب المثبت يكون قويًا فى حقول البطاطس المزروعة بأصناف لا تحمل هذا الجين، بينما يعتبر الجين R4 من الجينات الضعيفة، لأن الانتخاب المثبت يكون ضعيفًا فى حقول البطاطس المزروعة بأصناف لا تحمل هذا الجين لدرجة أن سلالة الفطر التى تحمل الرقم (4) تكون قادرة على البقاء بصورة طبيعية على أصناف البطاطس غير الحاملة للجين R4.

ومن علامات ضعف الجين R4 أن السلالة (4) شائعة الوجود - تمامًا - مثل السلالة (0) فى جميع أنحاء العالم برغم عدم وجود أى صنف من البطاطس يحمل الجين R4 منفردًا. كذلك يتساوى انتشار السلالة (1,4) مع السلالة (1)، والسلالة (2,4) مع السلالة (2)، والسلالة (1,2,3,4) مع السلالة (1,2,3) ... وهكذا. كذلك وجدت سلالات قادرة على كسر المقاومة التى توفرها أى من الجينات من R5 إلى R9 قبل انتشار زراعة الأصناف الحاملة لأى من هذه الجينات، مما يدل على ضعفها جميعًا كجينات مقاومة رأسية (عن Van der Plank 1984).

ويعتقد بأن قوة ظاهرة الانتخاب المثبت Stabilizing selection - التى تعمل فى صالح الطرز الطبيعية (البرية wild types) من المسببات المرضية تتناسب عكسيًا مع حجم جينوم المسبب المرضى، مما يجعل السلالات الفيروسية القادرة على كسر المقاومة أقل قدرة على البقاء والمنافسة مع الطرز البرية فى غياب تلك المقاومة (عن Fraser 1990).

ويمكن الرجوع إلى Crill (1977) بخصوص تقييم دور الانتخاب المثبت فى تربية الأصناف الجديدة المقاومة للأمراض.

تفسير ظاهرة الانتخاب المثبت

أوضح Flor فى عام 1935 أن الضراوة النوعية Virulence فى الفطر Melampsora lini المسبب لصدأ الكتان صفة متنحية. وبذا .. فإن زيادة الضراوة النوعية فى سلالة من الفطر تعنى زيادة الجينات المتنحية التى تحملها، وما قد يترتب على ذلك من نقص فى قوة الهجين. لكن .. لا يمكن الأخذ بهذا التفسير، نظرًا لأن الضراوة تكون سائدة فى حالات أخرى، كما تصعب مقارنة النباتات الثنائية التضاعف بالكائنات الأحادية، مثل الهيفات الفطرية، والبكتيريا.

وقد يمكن تفسير ظاهرة الانتخاب المثبت من خلال ظاهرة فرط الحساسية hypersen-sitivity؛ ففى حالة مرض الندوة المتأخرة فى البطاطس .. وصل الفطر والعائل إلى حالة من التوازن فى الطبيعة؛ كان من نتيجتها حدوث حالة فرط الحساسية عند احتواء العائل على أى من جينات المقاومة الرأسية R1، أو R2، أو R3. ولكن .. حدث - بطريق الطفرات - اختلال فى النمو الطبيعى للفطر، جعله قادرًا على إصابة النباتات الحاملة لهذه الجينات دون أن تحدث حالة فرط الحساسية. وبذا .. ظهرت سلالات الفطر القادرة على كسر المقاومة التى توفرها هذه الجينات.

ومع كل زيادة فى الضراوة .. كان على الفطر أن يبتعد أكثر وأكثر عن طريقته الطبيعية فى النمو؛ لكى لا تحدث ظاهرة فرط الحساسية. فإذا كان هذا التغير ذا تأثير مباشر على قدرة الفطر على التطفل .. أمكننا تفسير ضعف قدرة هذه السلالات على البقاء، مقارنة بالسلالات الأقل ضراوة التى تكون محتفظة بهيكلها الطبيعى للتطفل.

وحتى إذا افتراضنا أن الزيادة فى الضراوة لا تعنى أى فقد فى الهيكل الطبيعى للتطفل، فإنه من المنطقى أن تتوقع أن جينات المقاومة الرأسية فى العائل تؤدى إلى الإبقاء على الطفرات الجديدة من الطفيل، التى يوجد بها تغيرات أيضية تسمح لها بتجنب ظاهرة فرط الحساسية التى تسببها جينات المقاومة الرأسية، حيث يتعين على الطفيل أن يعيش بالطرق الأيضية المحورة فى ظل وجود المقاومة الرأسية.

والسؤال الذى يتبادر إلى الذهن هنا هو: هل يمكن أن تحدث بالطفيل طفرات تتحكم فى تغيرات أيضية مناسبة لبقائه فى ظل وجود المقاومة الرأسية، مع كون هذه التغيرات أكثر فاعلية لتكاثر وبقاء المسبب المرضى فى الظروف الطبيعية؟.

إن جميع الشواهد تدل على أن الإجابة عن هذا التساؤل بالنفى .. فالمقاومة الرأسية تجعل الطفيل أقل قدرة على التطفل عامة، وكلما ازدادت قوة جينات المقاومة الرأسية ازداد الانحراف عن القدرة الطبيعية على التطفل.

وقياسًا على ما سبق بيانه .. فإن ظاهرة الانتخاب المثبت Stabilizing Selection تجعل الطفرات الجديدة من المسببات المرضية - الأكثر ضراوة - أقل قدرة على المعيشة رميًّا، إذا ما كان لهذه الطفيليات دورة رمية.

وتعد السلالتان (1)، و (2) من الفطر Fusarium oxysporum f. lycopersici المسبب لمرض الذبول الفيوزارى فى الطماطم مثالاً للفطريات التى تقضى جزءًا من دورة حياتها مترممة فى التربة، فقد كان لنقل جين المقاومة الرأسية القوى I من L. pimpinellifolium (سلالة رقم 160) على الطماطم - بواسطة Bohn & Tuker فى عام 1940 - دور فعال - فى مكافحة المرض فى جميع أنحاء العالم.

ورغم اكتشاف سلالة الفطر رقم (2) القادرة على إصابة النباتات الحاملة للجين I - فى ولاية أوهايو الأمريكية، بواسطة Alexander & Tucker فى عام 1945 - إلا أن هذه السلالة مازالت أقل انتشارًا من السلالة رقم (1)، برغم مرور أكثر من 70 عامًا منذ اكتشافها، ويرجع ذلك إلى قوة الجين I الذى يجعل السلالات القادرة على كسر المقاومة التى يحدثها أقل قدرة على البقاء تحت الظروف الطبيعية.

ومن الأمثلة الهامة الأخرى للمسببات المرضية - التى تقضى جزءًا من دورة حياتها مترممة فى التربة - الفطر F. oxysporum f. conglutinans المسبب لمرض الاصفرار فى الكرنب. وقد اكتشف J. C. Walker أحد مصادر المقاومة لهذا المرض فى عام 1926، وكانت هذه المقاومة قوية جدًّا إلى درجة أنه لم تظهر لفترة طويلة جدًّا سلالات جديدة من الفطر قادرة على كسر المقاومة التى يحدثها هذا الجين.

هذا .. وكلما ازدادت قدرة الطفيل على المعيشة رميًّا فى الطبيعة .. كانت قوى الانتخاب المثبت المؤثرة عليه أقوى، إذ ما الداعى لظهور سلالات جديدة قادرة على كسر المقاومة ما دام السبب المرضى قادرًا على المعيشة رميًّا فى الطبيعة.

وكلما ازدادت قوة جين المقاومة الرأسية كانت السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة التى تحدثها هذه الجينات أقل قدرة على المعيشة رميًّا فى الطبيعة، وأقل قدرة على التطفل على أصناف العائل التى لا تحمل هذه الجينات. وبالعكس .. فإن ضعف جينات المقاومة الرأسية يعنى أن السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة التى تحدثها هذه الجينات تكون أكثر انتشارًا، حيث تكون قادرة على المعيشة رميًّا بشكل جيد، كما تحتفظ بقدرتها على التطفل على الأصناف التى تحمل جينات المقاومة الرأسية.

ويمكن أن تظهر السلالات الجديدة القادرة على كسر مقاومة الجينات القوية لو تكررت زراعة الأصناف الحاملة لنفس جينات المقاومة فى نفس قطعة الأرض فى عدة زراعات متتابعة لعدة سنوات. كذلك قد تظهر هذه السلالات على الأنواع القريبة المعمرة.

فترة نصف الحياة النسبية Relative Half-Life لسلالات الفطر

يعنى بفترة نصف الحياة النسبية المدة التى يتعين انقضاؤها لكى تنخفض نسبة سلالة معينة إلى سلالة أخرى - على صنف معين وتحت ظروف بيئية معينة - بمقدار النصف. فعند مقارنة سلالتين من المسبب المرضى على صنف ما نجد أن إحدى السلالتين تنقص نسبتها - دائمًا - مقارنة بالسلالة الأخرى. وتقدر فترة نصف الحياة النسبية بالمعادلة التالية:

$$0.693\ T = rA - rB$$

حيث إن:

T = فترة نصف الحياة النسبية للسلالة B مقارنة بالسلالة A.

rA = معدل الإصابة Infection Rate للسلالة A.

rB = معدل الإصابة للسلالة B.

0.693 = لوغاريتم 2 للأساس (e).

ويشترط لتطبيق المعادلة أن يكون قياس معدل الإصابة للسلالتين على نفس العائل وتحت ظروف متماثلة تمامًا، وأن تستخدم نفس وحدات الزمن لكل من r، و T.

وسائل الاستفادة من جينات المقاومة الرأسية فى الحد من خطورة سلالات الطفيل الجديدة

يمكن استغلال جينات المقاومة الرأسية بطريقة تسمح بالتغلب على خطورة السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة التى تحدثها هذه الجينات، أو الحد من سرعة ظهور هذه السلالات، وذلك باتباع إحدى الوسائل التالية:

1 - إدخال عدة جينات للمقاومة الرأسية فى الصنف الواحد، وهو الأمر المتبع حاليًّا بالنسبة لمقاومة صدأ الساق فى القمح فى كل من الولايات المتحدة وكندا.

2 - تقل جينات المقاومة للأصناف التجارية فى أزواج، لأن المسبب المرضى يزيد ضراوته خطوة بخطوة ليقابل الزيادة فى مقاومة العائل، فلو أمكن دفع العائل خطوتين إلى الأمام فقد لا يكون بإمكان الطفيل اللحاق به بسهولة.

3 - استخدام الأصناف المتعددة السلالات فى الزراعة، وهى التى نتناولها بالتفصيل فى موضع آخر من هذا الكتاب.

التوازن بين المقاومة الأفقية والضراوة الكمية Aggressiveness

إذا افترضنا أن المقاومة الأفقية للعائل مردها إلى عدم استطاعة الأنابيب الجرثومية للطفيل اختراق أنسجة العائل .. فإن هذه المقاومة يمكن أن تواجه فى الطفيل بظهور سلالات ذات قدرة أكبر على الإنبات. ويمكن أن يتكرر نفس الأمر بالنسبة لأية خاصية أخرى من خصائص المقاومة الأفقية؛ مثل إبطاء تكاثر المسبب المرضى، أو الحد من قدرته على إنتاج أجيال جديدة من الجراثيم، فتتكون سلالات جديدة ذات قدرة أكبر على التكاثر، أو على إنتاج الجراثيم ... إلخ. أى إن زيادة المقاومة الأفقية فى العائل يمكن أن تتبعها زيادة فى الضراوة الكمية للطفيل.

وأهم ما فى الأمر أن الزيادة فى الضراوة الكمية التى تظهر فى السلالات الجديدة من الطفيل لا يقتصر أثرها - فى عملية التطفل - على الأصناف ذات المقاومة الأفقية العالية فقط، بل يشمل كذلك جميع الأصناف الأخرى التى يقل فيها مستوى المقاومة الأفقية، وهذا على النقيض من حالات كسر المقاومة الرأسية؛ حيث تكون السلالات الجديدة الأكثر ضراوة أقل قدرة على التطفل على الأصناف التى لا تحمل هذه المقاومة الرأسية.

والسؤال الذى يتبادر إلى الذهن هو: إذا كانت الزيادة فى المقاومة الأفقية فى العائل تقابلها زيادة فى الضراوة الكمية بالطفيل، فلم لا تظهر سلالات جديدة من الطفيل على درجة عالية من الضراوة الكمية تكفى للقضاء على المقاومة الأفقية؟.

إن الإجابة المقترحة لهذا السؤال تكمن فى الطبيعة الكمية لهذه النوعية من الضراوة، حيث يترتب على ذلك أن تكون أكثر السلالات انتشارًا هى المتوسطة الضراوة.

المقارنة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية

المقارنة بين خصائص المقاومتين الرأسية والأفقية

نقدم فى جدول (5-2) مقارنة موجزة بين خصائص كل من المقاومة الرأسية والأفقية.

جدول (5-2): مقارنة بين خصائص المقاومتين الرأسية والأفقية (عن Singh 1993).

الخاصية	المقاومة الرأسية	المقاومة الأفقية
● تخصص الطراز الباثولوجى	متخصصة	غير متخصصة
● وراثة الصفة	بسيطة أو قليلة الجينات	متعددة الجينات، ونادرًا ما تكون قليلة الجينات
● الاستجابة للمسبب المرضى	فرط الحساسية عادة	مقاومة
● التعبير المورفولوجى	نوعى	كمى
● مرحلة التعبير عنها	من البادرة إلى النضج	تزداد مع زيادة عمر النبات
● مدى سهولة تقييمها والانتخاب لها	سهلة نسبيًّا	صعبة نسبيًّا

● احتمالات كسر المقاومة	محتملة ولا تستمر المقاومة لفترات طويلة	ضعيفة جدًّا وتستمر المقاومة لفترات طويلة
● العوائل التى تناسبها	الحولية فقط	الحولية والمعمرة
● المسببات المرضية التى تكون فعالة ضدها لفترات طويلة	التى تعيش فى التربة	كل أنواع المسببات المرضية
● الحاجة إلى التحكم فى توزيع جينات المقاومة زمانيًّا ومكانيًّا حسب انتشار السلالات	مهمة للغاية مع المسببات المرضية التى تنتشر مع الهواء	لا حاجة لها
● الحاجة إلى وسائل أخرى للمكافحة معها	مهمة	قليلة الأهمية كثيرًا
● التفاعل بين العائل والمسبب المرضى	موجود	غائب
● الكفاءة	تكون شديدة الفاعلية ضد بعض سلالات المسبب المرضى، ولكنها تكون عديمة الفاعلية ضد بعضها الآخر	يكون لها بعض الفاعلية ضد جميع سلالات المسبب المرضى، على الرغم من أنها قد لا تكون بذات الدرجة من الفاعلية ضدها جميعًا.
● التأثر بالظروف البيئية	قليلة التأثر بها	أكثر عرضة للتأثر بها

تقلل من سرعة تقدم الوباء المرضى بعد بدء الإصابة.	تؤثر فى بدء حدوث الوباء المرضى بشلّ فاعلية جزءاً من عشيرة المسبب المرضى، وهى التى تصل إلى نباتات تكون أكثر مقاومة لها	● التأثير فى تقدم الأوبئة
Polygenic, race nonspecific, pathotype-nonspecific, mature plant, adult plant, field, uniform	Major gene, race-specific, seedling, monogenic, differential, specific, pathotype-specific	● الأسماء الأخرى التى تستعمل معها

أسس المفاضلة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية

يجب أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان عند المفاضلة بين المقاومة الرأسية والمقاومة الأفقية قبل الشروع فى برامج التربية لمقاومة الأمراض، لأن لكل حالة نوع المقاومة الذى يناسبها كما يلى:

1 - ليس للمقاومة الرأسية أهمية أو قيمة كبيرة بالنسبة للمحاصيل المعمرة، أو تلك التى تصعب تربيتها:

فبينما يسهل إحلال صنف ذى مقاومة رأسية Vertical Pathodeme محل آخر فى المحاصيل الحولية مثل الحبوب، والبقوليات، والبطاطس، ومعظم محاصيل الخضر .. فإن ذلك يعد أمرًا صعبًا فى المحاصيل التى تبقى معمرة لفترة طويلة؛ مثل الفاكهة، وأشجار الغابات، والبن، والكاكاو.

كذلك تختلف المحاصيل فى مدى سهولة أو صعوبة تربيتها حسب درجة توفر الاختلافات الرأسية Vertical Variability بها، فبينما تزيد الاختلافات الرأسية وتسهل تربية محصول مثل قصب السكر، نجد أن محصولاً معمرًا آخر مثل الموز تقل فيه الاختلافات الرأسية وتصعب تربيته.

2 - تكون للمقاومة الرأسية قيمة وأهمية أكبر فى حالة الأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases عما فى الأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases:

تعتبر أمراض الذبول الفيوزارى، وذبول فيرتسيلليم، وأعفان الجذور - وغيرها من الأمراض التى تعيش مسبباتها فى التربة وتحدث الإصابة الطبيعية بها عن طريق الجذور - من الأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases، بينما تعتبر الندوة المتأخرة فى البطاطس وصدأ الساق فى القمح وغيرهما من الأمراض التى تنتقل جراثيمها عن طريق الهواء، وتحدث الإصابة الطبيعية بها عن طريق الأجزاء الهوائية للنبات من الأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases.

تتميز مسببات المجموعة الأولى ببطء انتشار سلالاتها الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية للعائل (Vertical Pathotypes) بعد ظهورها؛ فبينما يلزم مرور عشر سنوات على الأقل قبل الانتشار الوبائى لأية سلالة جديدة فى النوع الأول من الأمراض نجد أن السلالات الجديدة من النوع الثانى من الأمراض قد تنتشر فى قارة بأكملها فى خلال موسم زراعى واحد أو موسمين.

3 - تقل قيمة وأهمية المقاومة الرأسية عند استخدامها ضد المسببات المرضية السريعة التطفر:

تختلف درجة التطفر الرأسية Vertical mutability باختلاف المسببات المرضية، حيث تكون أسرع وبمعدلات أعلى فى بعضها عما فى البعض الآخر. وتحسب درجة التطفر بعدد المرات التى يمكن أن تظهر فيها سلالات جديدة من المسبب المرضى قادرة على كسر المقاومة الرأسية (Vertical Pathotypes) فى عشيرة من المسبب المرضى ذى حجم معين خلال عدد معين من الأجيال.

وبرغم أن هذا الأمر لا يمكن إجراؤه حاليًا، إلاّ أنه يمكن تقديره من معرفتنا بعدد السنوات التى تمر عادة بين إدخال مقاومة رأسية جديدة فى الزراعة وانهيار هذه المقاومة بسبب ظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى قادرة على التغلب عليها.

وقد سبق أن أوضحنا أن السرعة التى تظهر بها هذه السلالات تقل كلما زادت قوة جينات المقاومة الرأسية فى العائل، ولكن هذه السرعة تختلف أيضًا باختلاف المسبب المرضى.

فنجد - مثلاً - أن كل من الذبول الفيوزارى الذى يسببه الفطر Fusarium، والذبول البكتيرى الذى تسببه البكتيريا Clavibacter solanacearum من الأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases، إلا أن درجة التطفر الرأسية لهذه البكتيريا أعلى بكثير مما فى فطر الفيوزاريم. كذلك يعتبر الفطر P. graminis المسبب لمرض صدأ الساق فى القمح ذا درجة تطفر منخفضة نسبيًا؛ مقارنة بفطريات أخرى من تلك التى تسبب أمراضًا سريعة الانتشار Compound Interest Diseases مثل الفطر P. infestans المسبب لمرض الندوة المتأخرة فى البطاطس.

4 - تقل قيمة وأهمية المقاومة الرأسية - عادة - عند زراعة مساحات شاسعة من صنف واحد على درجة عالية من التجانس الوراثى فى منطقة جغرافية واحدة:

يزداد الضغط على المسبب المرضى لظهور سلالات جديدة منه قادرة على كسر المقاومة الرأسية للعائل كلما ازدادت المساحة المزروعة بالصنف الحامل لهذه المقاومة، وكلما ازدادت كثافة الزراعة بهذا الصنف، وازدادت درجة تجانسه الوراثى. وتتوفر جميع هذه العوامل فى زراعات القمح المقاومة لمرض صدأ الساق.

ويستفاد من ذلك أن المقاومة الرأسية تكون فى أفضل صورها عندما تكون زراعة الصنف الحامل لجين المقاومة الرأسية فى حقول منعزلة، لأن السلالة القادرة على إصابته لابد أن تصله من حقل آخر مزروع بنفس الصنف.

وتجدر الإشارة فى هذا المقام إلى أن المقاومة الأفقية - على خلاف المقاومة الرأسية - تكون فى أفضل صورها عند زراعة مساحات كبيرة متجاورة من الصنف المقاوم، لأن حدوث الإصابة فى حقل ما تتوقف على وصول الفطر من الحقول الأخرى المجاورة له، فإذا كانت هذه الحقول مزروعة كذلك بنفس المقاومة الأفقية .. فإن ذلك يؤدى إلى خفض كمية اللقاح التى تصل إلى الحقل. أما إذا وجدت المقاومة الأفقية العالية وسط حقول أخرى تقل فيها المقاومة الأفقية فإن المقاومة تكون فى أقل صورها.

5 - تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا أمكن التحكم فى الانتخاب المثبت وتوجيهه:

من المعروف أن الانتخاب المثبت Stabilizing Selection يتأثر بمدى قوة جينات المقاومة الرأسية، حيث يزيد كلما كانت الجينات أكثر قوة، وهو ما يعنى سرعة اختفاء السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة الرأسية - فى غياب زراعة الأصناف المقاومة - كلما ازدادت قوة الجينات المسئولة عن هذه المقاومة.

هذا .. إلا أنه لا يمكن التحكم فى الانتخاب المثبت عندما يكون المسبب المرضى قادرًا على الدخول فى طور سكون لفترات طويلة، كما فى بعض المسببات المرضية مثل الفطر **Synchytrium endobioticum**، والنيماتودا المتحوصلة **Heterodera spp.**، لأنه لا يمكن التحكم فى الانتخاب المثبت خلال فترات السكون.

6 - بينما يلزم جين واحد قوى من جينات المقاومة الرأسية لتوجيه الانتخاب المثبت ضد الطفيليات الاختيارية، فإنه يلزم جينان قويان - على الأقل - فى حالة الطفيليات الإجبارية:

لا يظهر دور الانتخاب المثبت **Stabilizing Selection** فى حالة الطفيليات الإجبارية إلا عند نمو السلالات القادرة على كسر مقاومة رأسية معينة على أصناف تخلو من الجينات التى تتحكم فى تلك المقاومة، فمثلاً .. عندما تصيب السلالة (1,2,3,4) من الفطر **P. infestans** صنفًا من البطاطس لا يحمل أى جينات للمقاومة الرأسية، فإن الضراوة الزائدة فى هذه السلالة تفقد تدريجيًّا إلى أن تصبح كالسلالة (4).

ويمكن استغلال ظاهرة الانتخاب المثبت وتوجيهها فى صالح المقاومة بتبادل زراعة أصناف تحمل جينات مختلفة للمقاومة الرأسية فى حالة الطفيليات الإجبارية، ويلزم لتحقيق ذلك جينان قويان على أقل تقدير. أما فى حالة الطفيليات الاختيارية .. فإن الانتخاب المثبت يمكن أن يحدث خلال النمو الرمى للمسبب المرضى، وهو ما يعنى إمكان توجيه ظاهرة الانتخاب المثبت لصالح المقاومة، حتى لو لم يتوفر سوى جين واحد قوى للمقاومة الرأسية.

7 - لا يجدى تنظيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية - فى المناطق الزراعية المتجاورة - إلا بالنسبة للأمراض السريعة الانتشار **Compound Interest Diseases**:

تعرف عملية تنظيم زراعة مختلف مصادر المقاومة الرأسية لنفس المرض فى المنطقة الجغرافية الواحدة باسم Pattern in Space، وترجع أهميته إلى أن استمرار زراعة صنف معين، أو أصناف معينة، تحمل نفس جين المقاومة الرأسية فى نفس المنطقة بصفة دائمة - وهو ما يعرف باسم Monoculture - يضع ضغطًا قويًّا على المسبب المرضى لإنتاج سلالات جديدة قادرة على كسر هذه المقاومة الرأسية. ويمكن تجنب هذا الوضع بزراعة أصناف تختلف فى مقاومتها الرأسية متجاورة فى نفس الموسم الزراعى Pattern in Space، أو بالتبادل فى مواسم زراعية مختلفة Pattern in Time.

يكون لتنظيم زراعة المقاومات الرأسية المختلفة فى الموسم الزراعى الواحد دور هام بالنسبة للأمراض السريعة الانتشار، ويمكن تحقيق هذا التنظيم بإحدى طريقتين كما يلى:

أ - النمط المحصولى :Crop Pattern

وفيه تزرع سلسلة من الأصناف الحاملة لجينات مختلفة من المقاومة الرأسية فى مناطق تمتد بعرض قارات بأكملها؛ بحيث يكون امتداد تلك المساحات الشاسعة عموديًّا على اتجاه تقدم وانتشار الوباء فى القارة. يؤدى ذلك إلى تأخير تقدم الوباء أثناء تقدم المسبب المرضى حيث يواجه - فى كل منطقة - بمقاومة رأسية. ويعرف مخطط التوزيع الجغرافى لجينات المقاومة الرأسية باسم "نشر جينات المقاومة" Gene Deployment.

ب - النمو النباتى Plant Pattern:

يُقصد بذلك زراعة صنف متعدد السلالات Multiline Variety فى المنطقة الجغرافية الواحدة، وبذا .. يقاوم كل نبات سلالات الفطر غير المتوافقة معه. ويجب أن تكون جينات المقاومة الرأسية المستخدمة فى كلا النمطين الزراعيين قوية لكى يكون الانتخاب المثبت قويًّا.

8 - لا يجدى تنظيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية - فى المواسم الزراعية المتتالية - إلا بالنسبة للأمراض البطيئة الانتشار Simple Interest Diseases:

تعرف عملية تنظيم زراعة الأصناف التى تختلف فى مقاومتها الرأسية لنفس المرض فى نفس الموقع خلال المواسم الزراعية المتتالية باسم Pattern in Time، وهى تلعب دورًا هامًّا بالنسبة لمقاومة الأمراض البطيئة الانتشار، ويمكن تحقيق هذا التنظيم باتباع دورة زراعية مناسبة تتضمن إما زراعة محاصيل مختلفة، وإما زراعة مقاومات رأسية مختلفة فى نفس قطعة الأرض خلال سنوات الدورة.

9 - لا تجدى المقاومة الرأسية - غالبًا - فى مقاومة الأمراض التى تنتقل مع الأجزاء المستعملة فى تكاثر المحصول سواء أكانت بذورًا، أم أجزاء خضرية من النبات:

إن الفائدة الأساسية للمقاومة الرأسية - كما سبق أن أوضحنا - هى خفض اللقاح الأولى Initial Inoculum الذى يبدأ منه الوباء؛ فإذا كان اللقاح ينتقل تلقائيًّا مع الأجزاء النباتية المستخدمة فى التكاثر، فإن المقاومة الرأسية تصبح عديمة الجدوى.

وتُواجَه هذه المشكلة بالنسبة للأمراض البطيئة الانتشار - كذلك التى يحدثها الفطر S. endobioticum، أو البكتيريا C. solanacearum - بقصر الزراعة على الدرنات المعتمدة. أما فى الأمراض السريعة الانتشار - مثل الندوة المتأخرة فى البطاطس - فإنه يكفى وجود درنة واحدة مصابة من بين كل 100000 درنة لحدوث الوباء، وهى درجة لا يمكن الحصول عليها فى الوقت الحاضر بالإمكانات المتاحة.

10 - يمكن فقدان المقاومة الرأسية بسهولة إذا كانت الحماية التى توفرها ليست كاملة:

إن الحماية التى توفرها المقاومة الرأسية ضد السلالات غير المتوافقة معها قد تكون تامة، أو غير تامة. فإذا كانت الحماية تامة وزرعت مساحات شاسعة (مليون فدان مثلاً) بصنف أو مجموعة من الأصناف التى تحمل نفس جين المقاومة الرأسية .. فإن هذا لن يسمح بظهور المرض؛ وبذا .. لا تتوفر الفرصة لظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى متوافقة مع هذا الجين. أما إذا كانت الحماية التى توفرها المقاومة الرأسية غير تامة، فإنه تحدث بعض الإصابات المرضية القليلة التى يترتب عليها إعطاء فرصة كبيرة لظهور سلالات جديدة متوافقة من المسبب المرضى، وبذا .. تُفقد المقاومة بسهولة.

11 - يكون للمقاومة الرأسية فائدة أكبر فى المناطق التى تكون المواسم الزراعية فيها مغلقة:

يقصد بالمواسم المغلقة Closed Scasons تلك التى لا تتداخل فيها المواسم المتتالية؛ حيث تفصل بينها ظروف قاسية لا تناسب الزراعة؛ كشتاء قارص البرودة، أو موسم جفاف طويل. وتؤدى المواسم المغلقة إلى تقليل عشيرة المسبب المرضى، وهو أمر عظيم الأهمية بالنسبة للأمراض السريعة الانتشار فى المحاصيل الحولية.

12 - تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا وضعت لها القوانين التى تحميها، مع مراقبة تنفيذها بدقة:

من أمثلة القوانين التى يجب أن توضع وتنفذ لحماية المقاومة الرأسية ما يلى:

أ - منع زراعة أصناف قابلة للإصابة مع الأصناف المقاومة، لأن هذا المنع يجبر المسبب المرضى على أن يعيش فى صورة جراثيم ساكنة فقط، وبذا .. لا تتمكن السلالات غير المتوافقة مع المقاومة الرأسية من التكاثر، وتقل فرصة ظهور سلالات جديدة متوافقة منها.

ب - قوانين اعتماد التقاوى.

جـ - قوانين تنظيم زراعة المقاومات الرأسية فى المكان والزمان.

د - قصر استخدام جينات المقاومة الرأسية - فى حالات الأمراض السريعة الانتشار - على الأصناف المتأخرة، والزراعات المتأخرة، ذلك لأن المسبب المرضى يصل إلى تلك الزراعات من الأصناف المبكرة .. وبينما تكون زراعة هذه الأصناف فى بداية مراحل الوباء ولا تتأثر كثيراً به، فإن الأصناف المتأخرة تنمو أثناء تقدم الوباء، ويؤدى استخدام المقاومة الرأسية فى الزراعات المبكرة إلى ظهور السلالات المتوافقة معها، وانتقالها إلى الزراعات المتأخرة؛ حيث تقضى عليها.

13 - تزداد قيمة وأهمية المقاومة الرأسية إذا صاحبها مستوى جيد من المقاومة الأفقية:

سبق أن أوضحنا أهمية هذا الأمر فى إبطاء تقدم الأوبئة.

14 - يكون الضرر الناشئ عن انهيار المقاومة الرأسية المعقدة (التى يتحكم فيها عدة R-genes) أقل من الضرر الناشئ عن انهيار المقاومة الرأسية البسيطة:

إن انهيار المقاومة الرأسية المعقدة Complex Vertical Resistance يعنى ظهور سلالات جديدة من المسبب المرضى متوافقة معها، ذات ضراوة رأسية معقدة Complex Vertical Pathotype.

ويبدو - فى حالة مسببات الأمراض السريعة الانتشار على الأقل - أن زيادة الضراوة الرأسية لسلالة ما (بزيادة عدد الـ V-genes التى تحتوى عليها السلالة) ترتبط بانخفاض مستوى الضراوة الأفقية Aggressiveness لهذه السلالة (أى قدرتها على إصابة العائل والتكاثر وإحداث الضرر). وأكبر دليل على صحة ذلك سرعة اختفاء السلالات ذات الضراوة الرأسية المعقدة بمجرد التوقف عن زراعة الأصناف المقابلة لها الحاملة للمقاومة الرأسية المعقدة.

وجدير بالذكر أن الانخفاض فى مستوى الضراوة الأفقية لسلالة ما من المسبب المرضى يماثل تمامًا الزيادة فى المقاومة الأفقية للعائل. وبذا .. فإن أى انهيار للمقاومة الرأسية المعقدة يعنى تعرضها للإصابة بسلالات منخفضة الضراوة، فيصبح العائل كما لو كان ذا مقاومة أفقية عالية (عن Robinson 1971، و 1980).

المقاومة المستدامة

مقدمة

إن المقاومة التى تستمر فاعلة لفترة طويلة (الـ durable) - أى المقاومة المستدامة sustainable - هى تلك التى لا يتغلب عليها المسبب المرضى على الرغم من زراعتها على نطاق واسع على مدى فترة زمنية طويلة فى ظروف تناسب المسبب المرضى.

يتبين من هذا التعريف للمقاومة المستدامة أو الـ durable صعوبة تقديرها كميًّا، وأنها تتباين كثيراً تبعًا لطبيعة تلك المقاومة، والظروف البيئية، والوضع الحالى لعشيرة العائل، وغالبًا ما يعتمد الحكم على مقاومة ما بأنها durable أو غير ذلك على الخبرة معها.

كذلك لا يمكن تحديد المقاومة الـ durable على أساس نوعها أو طبيعتها. فمثلاً .. يعتبر بعض الباحثين أن المقاومة الكمية هى مقاومة durable، بينما المقاومة البسيطة تكون سريعة الفقد ephemeral، هذا بينما يعتبر آخرون أن المقاومة التى تقلل من معدل تزايد المرض هى durable، بينما تلك التى تمنع حدوث الإصابة ليست durable، إلاّ إنه تعرف حالات كثيرة للمقاومة لا تنطبق عليها تلك التقسيمات.

وكل ما يمكن التوصل إليه حاليًّا أن أى مقاومة تتسبب فى حدوث أى نوع من التفاعل بين العائل والمسبب المرضى قد تكون سريعة الفقد بسبب احتمالات حدوث انتخاب للجينات التى تعيق تلقى إشارة ذلك التفاعل. ومن ناحية أخرى فإن المقاومة التكوينية constitutive resistance التى تعتمد على عدم قدرة العائل على توفير بعض الاحتياجات الضرورية للمسبب المرضى تكون غالبًا durable (عن Wolfe & Gessler 1992).

هذا .. ويوجد فى الطبيعة سباق محموم لاهوادة فيه بين المسببات المرضية التى تهاجم الأنواع النباتية ومقاومة تلك الأنواع لها، وهو سباق يلعب دورًا كبيرًا ومؤثرًا فى تطور كليهما. ومن المفهوم التطورى نجد أن كل أنواع المقاومة تكون فى نهاية المطاف مؤقتة، فالمقاومة التى تبقى إلى ما لانهاية **absolute durability** لا وجود لها.

وفى الزراعة نجد أن قدرة المقاومة على البقاء **durability** تتباين كذلك؛ حيث تتراوح مدة بقائها من جزء من السنة حينما تظهر السلالات الباثولوجية - القادرة على كسر المقاومة - فى المراحل الأخيرة من برنامج التربية، إلى أكثر من 130 عامًا كما هو الحال - مثلاً - مع مقاومة أصول العنب لمنِّ الفيللوكسيرا **Phylloxera aphid**.

ولقد عُرِّفت المقاومة الـ **durable** بأنها تلك التى تبقى فعالة بينما هى تستعمل على نطاق واسع فى الزراعة لفترة طويلة من الزمن فى ظروف بيئية مناسبة لظهور المرض. هذا .. وتتباين - كثيراً - فترة بقاء المقاومة فعالة باختلاف المحصول، وجين المقاومة، والمسبب المرضى. يستدل على ذلك من جدول (5-3)، الذى يتضح منه تباين تلك الفترة من سنة واحدة إلى 18 سنة فى مقاومة خمسة أصناف من القمح للصدأ الأصفر، ومن ثلاث سنوات إلى 20 عامًا فى مقاومة خمسة أصناف من الشعير للبياض الدقيقى، وذلك خلال الفترة من 1955 إلى 1994 فى هولندا (عن **Parlevliet 2002**).

وتعد المقاومة الـ **durable** ضرورية فى المحاصيل المعمرة حتى لا تقضى سلالات المسببات المرضية الجديدة على الاستثمارات التى وضعت فيها. وعلى سبيل المثال .. لم تكن مقاومة التفاح لكل من البياض الدقيقى والجرب مُرْضية إلى أن اكتشفت بعض حالات المقاومة الـ **durable** لكلا المرضين (عن **Wolfe & Gessler 1992**).

جدول (5-3): عدد سنوات بقاء المقاومة فعالة فى خمسة أصناف من القمح ضد الصدأ الأصفر، وخمسة أصناف من الشعير ضد البياض الدقيقى، وذلك بعد زراعة تلك الأصناف على نطاق واسع فى هولندا (عن **Parlevliet 2002**).

القمح		الشعير	
الصنف	عدد السنوات	الصنف	عدد السنوات
Tadorna	1	Ramona	3
Flevina	5	Aramir	5
Norda	8	Impala	5
Felix	15	Beflor	8
Arminda	18	Minerva	20

مدى انتشار المقاومة المستدامة ضد كل من المسببات المرضية المتخصصة وغير المتخصصة

توجد مجموعة من المسببات المرضية تتطور فيها السلالات بسهولة كبيرة، وهى التى يعرف - فى مقابلها - عديد من جينات المقاومة المتخصصة. ويبين جدول (5-4) أمثلة لتلك المسببات المرضية التى يمكنها كسر المقاومة فى فترات قصيرة للغاية بعد إدخال الأصناف الحاملة لجينات المقاومة فى الزراعة. ومن أهم خصائص تلك الحالات أن المقاومة تكون بفرط الحساسية، وأن كل المسببات المرضية تكون من الفطريات والبكتيريا (لا يوجد من بينها فيروسات)، وأن جميع تلك المسببات إما biotrophic، وإما semibiotrophic.

أما المقاومة ضد المسببات المرضية غير المتخصصة (الـ generalists) مثل المقاومة ضد الفطر Sclerotinia sclerotiorum فهى - كما هو معلوم - ذات طبيعة كمية وراثيًّا وتبقى فعالة لفترات طويلة، ولا يعرف ظهور أى سلالات متخصصة منها.

وبين تلك المجموعتين من المسببات المرضية (المتخصصة specialists وغير المتخصصة generalists) يوجد كثير من المسببات المرضية التى يتباين مدى عوائلها بين الضيق نسبيًّا والواسع نسبيًّا، ومن بين المسببات المرضية التى عُرفت فيها سلالات باثولوجية وكانت المقاومة ضدها فعالة لفترات طويلة highly durable تلك المبينة فى جدول (5-5). وتعرف من تلك المجموعة من المسببات المرضية ما هو ذا مدى عائلى ضيق نسبيًّا، ولم تعرف فيها سلالات باثولوجية، وكانت المقاومة ضدها فعالة منذ بداية إدخالها فى الزراعة، كما فى حالات: Cladosporium cucumerinum،و Corynespora melonis فى الخيار، و Periconia circinata فى السورجم، وPseudocercosporella herpotrichoides فى القمح، و Cochlibolus victoriae فى الشوفان.

جدول (5-4): أمثلة لمسببات مرضية لمحاصيل متنوعة توجد فيها مقاومة متخصصة قليلة البقاء non-durable وعديد من السلالات الباثولوجية للمسبب المرضى. B = biotrophic، و HB = hemi-biotrophic، و S = specialist ذا مدى ضيق من العوائل.

			عدد جينات المقاومة
المسبب المرضى	طبيعته	العائل	R-genes
فطريات			
Puccinia hordei	B,S	الشعير	15 <
P. coronata	B,S	الشوفان	30 <
P. sorghi	B,S	الذرة	25 <
P. triticina	B,S	القمح	40 <
Melampsora lini	B,S	الكتان	30 <

Blumeria graminis f. sp. hordei	B,S	الشعير	> 30
Bremia lactucae	B,S	الخس	> 16
Cladosporium fulvum	B,S	الطماطم	> 11
Phytophthora infestans	HB,S	البطاطس	> 11
Rhynchosporium secalis	HB,S	الشعير	> 10
Colletorichum lindemuthianum	HB,S	الفاصوليا	> 10
Magnaporthe grisea	HB,S	الأرز	> 16
بكتيريا			
Xanthomonas oryzae pv. oryzae	HB,S	الأرز	> 18
Pseudomonas syringae pv. phaseolicola	HB,S	الفاصوليا	5

جدول (5-5): أمثلة لمسببات مرضية لمحاصيل معينة توجد فى كل منها أعداد قليلة من جينات المقاومة المتخصصة وعدد قليل من السلالات الباثولوجية للمسبب المرضى. V = فطريات الذبول الوعائى، و S = متخصصة specialist، و MS = متخصصة بدرجة متوسطة، و G = غير متخصصة generalist، و B = biotrophic، و HB = hemibiotrophic.

المسبب المرضى	طبيعته	العائل
فطريات		
Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	**V,S**	**الطماطم**
F. oxysporum f. sp. pisi	**V,S**	**البسلة**
F. oxysporum f. sp. conglutinans	**V,S**	**الكرنب**
Cochiliobolus carbonum	**N,S**	**الذرة**
Ascochyta pisi	**HB, S**	**البسلة**
فيروسات		
Tobacco mosaic virus	**B,MS**	**الطماطم**
Potato virus X	**B, MS**	**البطاطس**
Potato virus Y	**B, BS**	**البطاطس**
Peanut mottle virus	**B, MS**	**الفول السودانى**
Bean common mosaic virus	**B, MS**	**الفاصوليا**
Bean yellow mosaic virus	**B, G**	**الفاصوليا**
Soybean mosaic virus	**B, MS**	**الفاصوليا**
Pea seedborne mosaic virus	**B, MS**	**البسلة**
Barley yellow mosaic virus	**B, MS**	**الشعير**

وللفيروسات خصائصها التى تميزها عن المسببات المرضية الأخرى؛ فهى تتباين فى مدى عوائلها من المدى الضيق جدًّا (كما فى الـ Andean potato latent virus) إلى الواسع جدًّا (كما فى فيروسات موزايك الطماطم، وموزايك التبغ، وذبول الطماطم المتبقع)، ولا يبدو أن لمستوى التخصص أى علاقة بمدى فاعلية المقاومة واستمرارها. وحتى مع تطوير الفيرس لسلالات جديدة فإن المقاومة ضدها غالبًا ما تكون فعالة لفترات طويلة durable، حتى ولو كانت المقاومة بسيطة فى وراثتها ومن نوعية فرط الحساسية (عن Parlevliet 2002).

تكون المقاومة ضد المسببات المرضية المتخصصة specialists من الفطريات والبكتيريا قصيرة البقاء غالبًا non-durable، وهى تتميز - عادة – بوجـود عديد من جينات المقاومة الرئيسية السائدة، وكثيرًا ما يوجد ارتباط بين مواقع جينات المقاومة، مع تواجد سلاسل من الآليلات المتعددة للموقع الجينى الواحد، ومواقع أخرى معقدة complex loci. يتمثل ذلك بوضوح فى صدأ الكتان الذى يسببه الفطر Melampsora lini الذى يُعرف له أكثر من 30 جينًا للمقاومة تقع فى 7 مواقع أو مناطق كروموسومية دقيقة أعطيت الرموز K، و L، و M، و N، و P، و D، و Q، مع وجود ارتباط بين المنطقتين N، و P، وكذلك بين المنطقتين N، و K، وتتكون المنطقة N مما لا يقل عن موقعين مرتبطين بشدة. أما المنطقة M فهى تحمل 4 مواقع شديدة الارتباط. وبالمقارنة .. توجد بالمنطقة L 14 آليلاً لاهى بالآليلات المتعددة فى سلوكها، ولا تقع فى مواقع شديدة الارتباط.

تعمل تلك الجينات الرئيسية للمقاومة على أساس نظرية الجين للجين مع جينات عدم الضراوة avirulence genes فى المسبب المرضى. فنجد عند حدوث الإصابة أن مُنتَج جين عدم الضراوة يتم التعرف عليه بواسطة مُنتَج جين المقاومة المقابل له؛ لِتُستَحث سلسلة من الأحداث، تتضمن موت سريع ومحلى لخلايا العائل التى اخترقها المسبب المرضى - فيما يعرف بفرط الحساسية - مما يقود إلى المقاومة.

توجد جينات رئيسية هامة لا تستحث حالة فرط الحساسية، مثل جينات: Sr2 المسئول عن مقاومة القمح لصدأ الساق، و Lr34 المسئول عن مقاومة القمح - كذلك - لصدأ الأوراق، و ml-o المسئول عن مقاومة الشعير للبياض الدقيقى. هذه الجينات تعمل من خلال آلية أخرى غير فرط الحساسية، وهى جينات استمرت فعالة - ومازالت - بعد سنوات طويلة من استعمالها على نطاق واسع فى الأصناف المنتشرة فى الزراعة؛ فهى تتحكم فى مقاومة تحتفظ بفاعليتها (durable).

ولقد أوضحت الدراسات أن حالات المقاومة ضد الفطريات المتخصصة - والتى تستمر فاعليتها لفترات طويلة - تكون - غالبًا - ذات طبيعة كمية، حيث يتحكم فيها - عادة - عديد من الجينات القليلة التأثير، وإن كانت تأثيراتها إضافية. وتتواجد المقاومة القليلة الجينات oligogenic أو العديدة الجينات polygenic على مستوى منخفض إلى متوسط فى معظم الأصناف -لغالبية المحاصيل المزروعة - ضد كل المسببات المرضية. تظهر تلك المقاومة الكمية بعد أن يفقد جين المقاومة الرئيسى (الـ R gene) فاعليته، ويعبر عنها - أحيانًا - باسم المقاومة المتخلفة (أو المتبقية) residual. وغالبًا .. لا يكون مستوى تلك المقاومة المتخلفة مناسبًا أو كافيًّا للعمل على تجميعه - بالتربية - فى مستويات أعلى. ويستدل من الدراسات الوراثية التى أجريت فى هذا المجال أن تلك المقاومة يتحكم فيها 2-3 جينات كما فى الذرة ضد Puccinia sorghi وفى القمح ضد P. triticina، وإلى عديد من الجنيات كما فى الشعير ضد P. hordei، والقمح ضد P. graminis f. sp. tritici، والأرز ضد Xanthomonas oryzae pv. oryzae، والذرة ضد كل من Cochlioblus heterostrophus، و Setosphaeria turcica. كذلك تعرف مقاومة حقل فى البطاطس ضد Phytophthora infestans، وفى الشعير ضد Rhynchosporium secalis (عن Parlevliet 2002).

هذا إلا أنه تعرف حالات كثيرة من المقاومة البسيطة ضد فطريات متخصصة احتفظت بفاعليتها لفترات طويلة جدًّا، ومن أمثلتها ما يلى:

1 - أظهرت المقاومة البسيطة لاصفرار الكرنب (الذبول الفيوزارى) الذى يسببه الفطر Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans فاعلية كبيرة منذ عشرينيات القرن الماضى حينما أدخلت فى الأصناف التجارية.

2 - ظلت المقاومة الكمية الجزئية لصدأ الأوراق فى الشعير (الذى يسببه الفطر Puccinia hordei) - فى صنفى الشعير Minerva، و Vada - على نفس الدرجة من الفاعلية منذ إدخالهما فى الزراعة فى عام 1955.

3 - على الرغم من أن كل حالات المقاومة للبياض الدقيقى فى الشعير لم تكن durable، إلاّ أن المقاومة التى يوفرها الجين mlo - وهى بسيطة كغيرها من حالات المقاومة - تعد durable، وقد أرجعت تلك الحالة إلى أن الجين melo يؤثر سلبيًّا فى معدل تكوين الحليمات الفطرية الماصة papilla فى العائل؛ مما يحد من اختراق المسبب المرضى لخلايا البشرة.

4 - تعرف حالات كثيرة لم يتمكن فيها المسبب المرضى - بعد - من تطوير سلالات قادرة على كسر الجينات التى تتحكم فيها، ومن أمثلة ذلك مقاومة البطاطس لكل من فيرس إكس البطاطس (الجين Rx) وفيرس واى البطاطس (الجين Ry)، والجين المتنحى لمقاومة لفحة فيكتوريا فى الشوفان.

ولا شك أن هناك عوامل كثيرة يمكن أن تؤثر فى طول فترة احتفاظ المقاومة بفاعليتها، مثل مدى انتشار زراعة الأصناف الحاملة لتلك المقاومة، والإجراءات التى تتخذ لخفض مستوى المسبب المرضى فى بيئة الزراعة (عن Singh 1993، و Parlevliet 2002).

المقاومة ضد المسببات المرضية غير المتخصصة

تكون المقاومة ضد المسببات المرضية غير المتخصصة generalists (وهى تلك التى تصيب أكثر من نوع نباتى) .. تكون - غالبًا - ذات طبيعة كمية وفعالة لفترات طويلة highly durable، كما أن المقاومة لإحداها قد تكون فعالة - كذلك - ضد المسببات المرضية غير المتخصصة الأخرى القريبة منها.

ومن الأمثلة على ذلك الطبيعة الكمية للمقاومة ضد Sclerotinia sclerotiorum فى المحاصيل التى درست فيها، مع عدم وجود سلالات باثولوجية متخصصة من الفطر، وكذلك المقاومة ضد S. minor فى دوار الشمس. وفى الذرة يسبب عفن حبوب الكوز عددًا من الفطريات غير المتخصصة مثل Fusarium monoliforme، وبعض أنواع الفيوزاريم الأخرى القريبة، بالإضافة إلى Diplodia zeae، ولقد ثبت أن المقاومة ضد عفن حبوب الكوز ذات طبيعة كمية، وأنها فعالة ضد عديد من تلك المسببات.

لقد وجدت حالات كثيرة من المقاومة البسيطة التامة فى عديد من المحاصيل ضد عديد من الفيروسات، وتنوعت فترة فاعلية تلك المقاومات (أى حالة الـ durability بها) من قصيرة جدًّا (كما فى حالة مقاومة الجيـن Tm1 فى الطماطم ضد فيرس موزايك التبـغ) إلى طويـلة جـدًّا (كما فى حـالة مقاومـة الجيـن Tm2 فى الطماطم والجيـن N فى التبغ ضد فيرس موزايك التبغ كذلك). وفى واقع الأمر أن الجين Tm1 يعد استثناءًا؛ ذلك لأن معظم حالات المقاومة البسيطة ضد الفيروسات تكون فعالة لفترات طويلة. وعلى خلاف حالات فرط الحساسية ضد كل من الفطريات والبكتيريا والتى تكون فاعليتها لفترات قصيرة جدًّا، فإن حالات فرط الحساسية ضد الفيروسات تستمر فعالة لفترات طويلة - كذلك فإن مقاومة الجين Tm1 فى الطماطم لا تكون بفرط الحساسية، بينما نجد أن مقاومة الجينين Tm2، و Tm22 - الأكثر دوامًا وفاعلية - هى بفرط الحساسية.

ويبدو أن المقاومة ضد الفيروسات تخضع لنظرية الجين للجين فى عديد من الحالات، كما فى فيروسات: موزايك التبغ فى الطماطم والفلفل، وإكس البطاطس وواى البطاطس فى البطاطس، وموزايك الفاصوليا العادى فى الفاصوليا.

كثيرًا ما تُطور الفيروسات سلالات مقابلة لجينات المقاومة البسيطة، وخاصة تلك التى تكون بطريق فرط الحساسية، إلاّ أن تلك السلالات لا يكون بمقدورها الانتشار لأنها تكون غالبًا مُضعفة، ومن أمثلة ذلك السلالات التى تظهر مقابلة للجينين Tm2، و Tm22 المسئولين عن المقاومة لفيرس موزايك التبغ فى الطماطم. وليس ذلك بالأمر المستغرب نظرًا للصغر الشديد للجينوم الفيروسى وعدم إشفاره إلاّ لعدد محدود من البروتينات، وجميعها هامة لبقاء الفيرس وتكاثره.

وكما فى حالة الفطريات والبكتيريا، فإن المقاومة الكمية ضد الفيروسات غالبًا ما تكون فعالة لفترات طويلة، ولقد عرفت مقاومات كمية من هذا النوع ضد عديد من فيروسات البطاطس، مثل PVA، و PVM، و PVS، و PVX، و PVY، و PLRV.

ويبين جدول (5-6) ملخصًا بمدى شيوع الطرز المختلفة من المقاومة ضد مختلف أنواع المسببات المرضية، ومتوسط دوام فاعلية تلك المقاومات (عن Parlevliet 2002).

وسائل تحقيق المقاومة المستدامة

اقُترِحَ تهريم pyramiding جينات المقاومة (إضافتها واحدًا تلو الآخر فى سلالة أو صنف واحد من المحصول) كوسيلة لجعلها durable، إلا أن ذلك الاقتراح يفترض أمرين، هما:

1 - أن أى من الجينات التى جُمِّعت معًا لم يسبق لها التعرض للمسبب المرضى فى منطقة الزراعة.

2 - أن سلالة المسبب المرضى القادرة على كسر مقاومة الجين الأول - إن وجدت - لا تكون قادرة على تكوين عشيرة بحجم كبير كافٍ يسمح بانتخاب طفرات منها قادرة على كسر مقاومة الجين الثانى، وهكذا.

وإن لم تتوفر تلك الفروض فإن الصنف لن يكون - غالبًا - durable.

جدول (5-6): مدى شيوع الطرز المختلفة للمقاومة ضد الأنواع المختلفة من المسببات المرضية، ومتوسط دوام فاعلية (durability) تلك المقاومات (عن Parlevliet 2002).

	الفطريات والبكتيريا				الفيروسات	
	ذوات المدى العائلى المحدود		ذوات المدى العائلى الواسع		أيًا كان مداها العائلى	
طراز المقاومة	مدى الشيوع(أ)	دوام الفاعلية(ب)	مدى الشيوع	دوام الفاعلية	مدى الشيوع	دوام الفاعلية
بسيطة مع فرط الحساسية	5	1	1	-	3	2 إلى 4
بسيطة مع غير فرط الحساسية	2	4	1	-	3	1 إلى 5
كمية	5	5	4	5	5	5

أ - مدى الشيوع: 1 - غائب أو منخفض للغاية، و 2 - قليل الشيوع، و 3 - متوسط الشيوع، و 4 - كثير الشيوع، و 5 - موجود دائمًا تقريبًا.

ب - فترة دوام الفاعلية (durability): 1 - بدون فترة بقاء تذكر non-durable، و 2 - قليل البقاء، و 3 - متوسط البقاء، و 4 - بقاء بفاعلية لفترة طويلة durable، و 5 - بقاء بفاعلية لفترة طويلة جدًا highly durable.

وتجدر الإشارة إلى أن جميع حالات المقاومة الـ durable المعروفة لنا قد تعرفنا عليها بعد مرور فترة طويلة من تطويرها؛ فلم يكن الانتخاب لها من أهداف التربية ابتداءً. يتمثل ذلك بوضوح فى حالات كثيرة، مثل أصداء الحبوب والتى تُعرف فيها حالات كثيرة من المقاومة الـ durable ضد صدأ الساق وصدأ الأوراق والصدأ الأصفر فى القمح.

وفى حالة صدأ الساق فإن جميع الجينات: Sr2، و Sr26، و Sr31، و Sr36 توفر مقاومة durable، إلاّ أن Sr2 هو أكثرها استعمالها نظرًا لتواجده فى كثير من أقماح الـ CIMMYT. وبالنسبة لصدأ الأوراق فإن المقاومة الـ durable توفرها مجموعة من الجينات المصاحبة لكل من الجينات Lr12، و Lr13، و Lr34. وأما بالنسبة للصدأ الأصفر فإن المقاومة الـ durable تتوفر فى مجموعة من الأصناف، مثل القمح الفرنسى Cappelle-Desprez الذى يحتوى على مجموعة من الجينات التى تتحكم فى صفة المقاومة تلك.

وقد قدم Leach وآخرون (2001) عديدًا من الأدلة على أن المقاومة التى يتحكم فيها جينات تفرض على المسبب المرضى أن يفقد قدرًا كبيرًا من قدرته على المنافسة والتكاثر والبقاء حتى يتغلب عليها هى - غالبًا - مقاومة فاعلة لفترة طويلة (durable). ولا شك أن القدرة على التنبؤ بطول فترة فاعلية جينات المقاومة - خاصة الجينات الرئيسية R genes - يعد أمرًا مرغوبًا فيه حتى يكون الاستثمار فى كل من تربية النبات والهندسة الوراثية اقتصاديًّا. وما لم تكن هناك وسيلة لتحقيق ذلك التنبؤ (بفترة فاعلية المقاومة) فإنه لا يمكن أن يعرف مدى فاعليتها إلاّ بعد أن تكسر المقاومة بالفعل.

وعلى الرغم من أن غالبية حالات كسر المقاومة تحدث - خاصة - عندما تكون المقاومة بسيطة ويتحكم فيها جين رئيسى R gene يُحدث تأثيره بخاصية فرط الحساسية .. فإنه تعرف حالات عديدة ظلت فيها المقاومة البسيطة فعالة لفترات طويلة جدًّا، ومن أبرز الأمثلة على ذلك مقاومة الكرنب البسيطة للفطر Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans مسبب مرض الاصفرار، ومقاومة الجين Lr34 للفطر Puccinia triticina مسبب مرض صدأ الأوراق فى القمح، ومقاومة الجينين Xa3، و Xa4 للبكتيريا Xanthomonas oryzae pv. oryzae مسببة مرض اللفحة البكتيرية فى الأرز. إن توفر مثل هذه الأمثلة - وغيرها - على مقاومة الجينات الرئيسية التى تبقى فاعلة لفترات طويلة يعطى الأمل فى إمكان استخدام المزيد منها فى برامج التربية إن أمكن التنبؤ بفاعليتها قبل الشروع فى برامج التربية.

وتزداد فرصة استمرار قوة المقاومة للفيروسات فى الحالات التالية:

1 - عندما يتطلب الأمر حدوث عدة طفرات متزامنة فى الفيرس لكى تتكون سلالة جديدة قادرة على كسر المقاومة، كما فى حالة مقاومة جين التبغ N لفيرس موزايك التبغ (جدول 5-7).

جدول (5-7): قوة بقاء فاعلية المقاومة durability مقارنة بعدد طفرات الفيرس التى تلزم لكسرها.

المحصول	الجين	قوة بقاء فاعلية المقاومة durability	عدد تغيرات الأحماض الأمينية التى تلزم لكسر المقاومة
البطاطس	N6	ضعيفة	1
	Nx	ضعيفة	1 (أو 2)
الكرنبيات	TuRBO1	ضعيفة	1
الطماطم	Tm-1	ضعيفة	2
	Tm-2	متوسطة	2
التبغ	va	متوسطة إلى جيدة	4
الطماطم	Tm-22	جيدة جدًّا	2
البطاطس	Rx1	جيدة جدًّا	2
التبغ	N	ممتازة	عديدة
البطاطس	Ry	مطلقة (إلى الآن)	كثيرة

2 - إذا ما وجد جينين أو أكثر للمقاومة للفيرس - معًا - فى العائل الواحد؛ الأمر الذى يستلزم حدوث طفرتين - أو أكثر - فى الفيرس فى آن واحد لكى تكون السلالة الجديدة المتكونة قادرة على البقاء.

3 - عندما تؤدى المقاومة إلى حصر تواجد الفيرس فى الخلية التى وصلها الفيرس فقط، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

أ - اقتصار تواجد فيرس موزايك الطماطم على الخلايا المحقونة فقط عندما تحمل الطماطم الجين Tm-22.

ب - وقف تكاثر فيرس إكس البطاطس سريعًا بعد حقن البطاطس الحاملة للجين Rx1 بالفيرس.

جـ - منع البطاطس الحاملة للجين Ry لتكاثر فيرس واى البطاطس (عن Harrison 2002).

ويستدل من واقع الحال فى عديد من الأمثلة أن تأقلم المسببات المرضية على حالات المقاومة الكمية التى يتحكم فيها عديد من الجينات يعد أمرًا صعبًا للغاية، حتى مع الفطريات والبكتيريا المتخصصة، إلا إنه يعرف استثناءًا واحدًا لتلك القاعدة، وذلك فى مقاومة صنف البطاطس بمبرنال Pimpernal للفطر P. infestans. هذا الصنف لا يحتوى على أى جينات رئيسية (R genes) للمقاومة، بينما هو يحمل مستوى كبيراً من المقاومة فى كل من النموات الخضرية والدرنات. ويتحكم فى مقاومة الحقل للنموات الخضرية عديد من الجينات، وهى مقاومة فعالة لفترات طويلة highly durable. كذلك فإن مقاومة الدرنات كمية وفعالة لفترات طويلة، إلاّ أنهما مستقلتان. وقد ذكرت حالات تدهورت فيها مقاومة الدرنات فى هذا الصنف - بعد فترة طويلة من زراعته على نطاق واسع، إلاّ أن تلك العزالات لم يكن لها ذات الضراوة على أصناف أخرى (عن Parlevliet 2002).

ولقد اقترح Van den Bosch & Gilligan (2003) ثلاثة مقاييس للـ durability تعتمد على موديلات وبائية epidemiological models تربط ما بين ديناميكية العشائر population dynamics ووراثة العشائر population genetics.

ولمزيد من التفاصيل عن المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار .. يراجع Lamerti وآخرين (1983).

الفصل السادس

وراثة المقاومة للأمراض

إن نجاح برامج التربية لمقاومة الأمراض يتوقف إلى حد كبير على إلمام المربى بكل جوانب وراثة صفة المقاومة، لكى يمكنه توجيه برنامج التربية، وإجراء اختبارات التقييم بالكيفية التى تسمح بانتخاب النباتات المقاومة خلال الأجيال المتتالية من برامج التربية بأبسط الطرق. ونتناول فى هذا الفصل أهم ما يتعين دراسته فى هذا الشأن. أما عن كيفية إجراء التجارب الوراثية لدراسة تلك الأمور فيمكن الرجوع إليها فى أحد المراجع المتخصصة فى أسس وطرق تربية النبات، مثل حسن(2005أ، و 2005ب).

وقد كان R.H. Biffen هو أول من طبق قوانين مندل على وراثة المقاومة للأمراض، وكان ذلك على مرض الصدأ المخطط فى القمح الذى يسببه الفطر Puccinia glumarum. بدأ Biffen دراسته بعد اكتشاف قوانين مندل مباشرة، ونشرها فى عام 1905، حيث قدم أول دليل علمى على أن المقاومة للأمراض صفة وراثية تنعزل مثلما الصفات النباتية الأخرى، وكانت المقاومة للمرض - فى هذه الدراسة - صفة بسيطة ومتنحية.

الجوانب التى يتعين معرفتها عن وراثة المقاومة

نلقى فيما يلى - نظرة سريعة عن أهم الجوانب التى يتعين دراستها بخصوص وراثة المقاومة للأمراض، ونؤجل التفاصيل إلى الأجزاء اللاحقة من هذا الفصل. إن من أهم هذه الأمور ما يلى:

1 - عدد الجينات المتحكمة فى المقاومة، سواء أكانت المقاومة بسيطة، أم كمية.

2 - التفاعلات الآليلية (أى ما إذا كانت المقاومة سائدة، أم متنحية).

3 - التفاعلات غير الآلية (التفوق Epistasis).

4 - الوراثة السيتوبلازمية Cytoplasmic Inheritance.

5 - درجة توريث صفة المقاومة Heritabity.

قد تكون درجة التوريث على النطاق العريض Broad Sense، وهى النسبة المئوية للجزء من الاختلافات الكلية الذى يعود لأسباب وراثية، وقد تكون على النطاق الضيق Narrow Sense وهى الاختلافات الوراثية التى تعود إلى الإضافة كنسبة مئوية من الاختلافات الكلية. وكلما زادت درجة التوريث - خاصة على النطاق الضيق - كلما كان الانتخاب للصفة أكثر فاعلية. وتنخفض - عادة - درجة التوريث كلما زاد تأثر الصفة بالعوامل البيئية، إلا أنه توجد أمثلة عديدة لدرجات التوريث المرتفعة، مثل المقاومة للذبول الفيوزارى فى البطاطا التى قدرت - على النطاق الضيق - بنحو 86% (Jones 1969).

6 - درجة النفاذية Penetrance:

هى النسبة المئوية لظهور صفة المقاومة على النباتات التى تحمل جينات المقاومة. ومن الطبيعى أن الانتخاب لصفة المقاومة يكون أسهل وأسرع كلما ازدادت درجة نفاذيتها. ولحسن الحظ فإن المقاومة لمعظم الأمراض ذات نفاذية عالية، ومثال ذلك المقاومة للذبول الفيوزارى فى الطماطم، حيث وجد أنه بزيادة تركيز اللقاح Inoculum يمكن إحداث الإصابة فى 96% من النباتات القابلة للإصابة دون أن تتأثر النباتات المقاومة الأصيلة (Alon وآخرون 1971).

7 - تأثير الجينات المحورة Modifying Genes:

حيث يمكن لجين ما أن يثبط، أو يغير، أو يحفز من تأثير جين آخر، وتعرف الجينات المؤثرة على فعل جينات أخرى باسم الجينات المحوِّرة.

8 - العوامل المؤثرة على وراثة صفة المقاومة، مثل: عمر النبات، ومختلف العوامل البيئية، وسلالة المسبب المرضى، وتركيز اللقاح ... إلخ.

9 - الارتباط بين المقاومة، والصفات النباتية الأخرى سواء أكانت تلك الصفات مرغوبة، أم غير مرغوب فيها، علمًا بأن الانتخاب لصفة المقاومة يمكن أن يجرى بكفاءة عالية عند ارتباط المقاومة بصفة مرغوبة وظاهرة، كما فى حالة ارتباط المقاومة لمرض الاسوداد فى البصل بلون الحراشيف الخارجية للبصلة.

10 - تأثير جين أو جينات المقاومة لمسبب المرض على مسببات الأمراض الأخرى، مثل حالة مقاومة البسلة لكل من فيروسى موزايك البطيخ، وموزايك الفاصوليا العادى التى يتحكم فيها جين واحد متنح (Schroeder & Provvidenti 1970).

11 - تأثير جين أو جينات المقاومة على السلالات المختلفة للمسبب المرضى:

يمكن أن يكسب الجين الواحد النبات الحامل له مقاومة ضد أكثر من سلالة واحدة من سلالات المسبب المرضى. ومن أمثلة ذلك مقاومة صنف القمح Kanred لإحدى عشرة سلالة من الفطر P. graminis tritici (وهى مقاومة يتحكم فيها جين واحد)، والصنف Turkey 3055 الحامل للجين T المسئول عن المقاومة لخمس عشرة سلالة من الفطر T. caries والصنف Rio الحامل للجين M المسئول عن المقاومة لثمانى سلالات من الفطر T. foetida (Allard 1960).

وبينما قد يُكسب الجين الواحد النبات مقاومة لأكثر من سلالة من المسبب المرضى، فإنه لا يشترط تشابه وراثة المقاومة لجميع هذه السلالات؛ ففى الذرة .. نجد أن الجين Rp3 يكسب النباتات مقاومة سائدة ضد السلالة 901 من الفطر Puccinia sorghi المسبب للصدأ، كما يكسبها أيضًا مقاومة متنحية ضد السلالة 903 من نفس الفطر. وقد فشلت محاولات العثور على جين آخر فى موقع الجين Rp3 أو قريبًا منه (عن 1982 Manners). كما وجد أن المقاومة للفطر P. striiformis فى القمح (والتى يتحكم فيها جينان) تكون سائدة ضد بعض سلالات الفطر، ومتنحية ضد سلالات أخرى منه.

12 - تأثير الخلفية الوراثية للنبات على وراثة المقاومة:

قد تؤثر الخلفية الوراثية للنبات على وراثة مقاومته للأمراض؛ ففى القمح .. وجد أن الجين Lr2 المسئول عن المقاومة للفطر P. recondita tritici (المسبب لمرض صدأ الأوراق) يكون سائدًا وهو فى الخلفية الوراثية للصنف Red Bobs، بينما يكون متنحيًا وهو فى الخلفية الوراثية للصنف Thatcher (عن 1984 Van der Plank).

خصائص وراثة المقاومة للأمراض

تتميز وراثة المقاومة لبعض الأمراض بخصائص معينة، ويفيد الإلمام بها فى إجراء برامج التربية للمقاومة على الوجه الأكمل، ومن تلك الخصائص ما يلى:

ارتباط المقاومة بصفة نباتية ظاهرة

المقاومة لمرض الاسوداد أو التهبب فى البصل

تعتبر المقاومة للفطر Colletotrichum circinans المسبب لمرض الاسوداد أو التهبب Smudge فى البصل من أبرز الأمثلة التى ترتبط فيها المقاومة بصفة مورفولوجية واضحة، كما تعد مثالاً للمقاومة التى يتحكم فيها ثلاثة جينات مستقلة يحدث بينها تفاعلات غير آليلية، وللمقاومة التى ترجع إلى وجود مركبات كيميائية معينة بالنبات قبل حدوث الإصابة؛ ففى هذا المرض .. ترتبط المقاومة للفطر بلون الحراشيف الخارجية للأبصال، حيث تكون المقاومة عالية فى الأبصال الحمراء والصفراء، ومتوسطة فى الأبصال الوردية والكريمية اللون، بينما تكون الأبصال البيضاء قابلة للإصابة. ويتحكم فى وراثة كلا الصفتين ثلاثة أزواج من الجينات كما يلى (عن Walker 1957):

التركيب الوراثى	لون الأبصال	المقاومة
R-C-ii	حمراء	عالية
rr C - ii	صفراء	عالية
R - C - Ii	وردية	متوسطة
rr C - Ii	كريمية	متوسطة
R - C - II	بيضاء	لا توجد
rr C - II	بيضاء	لا توجد
R - cc I -	بيضاء	لا توجد
R - cc ii	بيضاء	لا توجد

rr cc Ii	بيضاء	لا توجد
rr cc ii	بيضاء	لا توجد

وقد أوضح Clarke فى عام 1944 (عن Jones & Mann 1963) ضرورة وجود العامل الوراثى السائد (C) لظهور أى تلوين بالأبصال .. فكل الأبصال ذات التركيب الوراثى cc تكون بيضاء اللون. وتكون الأبصال حمراء اللون عن وجود الجينين R، و C معًا، وتصبح الأبصال صفراء اللون عندما يوجد الآليل المتنحى r بحالة أصيلة مع الجين السائد C.

كذلك يوجد جين ثالث (I) ذو سيادة غير تامة، ويؤثر على لون الأبصال كما يلى:

1 - تكون الأبصال بيضاء اللون عند وجودة بحالة سائدة أصيلة، أيًّا كانت الجينات الأخرى الموجودة معه.

2 - عند وجوده بحالة متنحية أصيلة .. يتحدد اللون بالجينين C، و R كما سبق بيانه.

3 - أما عند وجوده بحالة خليطة .. فإن اللون يكون ورديًّا فى وجود الجينين C، و R بحالة سائدة، وكريميًّا عند وجود الجين C بحالة سائدة، والجين R بحالة متنحية أصيلة (rr).

وتبين من الدراسات التى أجريت على طبيعة المقاومة للمرض أن الحراشيف الخارجية للبصل الملون تحتوى على مادتين فينوليتين قابلتين للذوبان فى الماء هما: الكايتكول Catechol، وحامض البروتوكاتيكوِّك Protocatechuic Acid، وهما سامتان للفطر المسبب لمرض الاسوداد. تذوب المادتان فى الماء الأرضى حوله البصلة، وبذا .. تمنعان الفطر من إصابة الأبصال.

وقد وجد أن الأوراق المتشحمة الداخلية لا تكون مقاومة للفطر إذا أزيلت الحراشيف الخارجية للبصلة، ويرجع ذلك - غالبًا - إلى أن المواد السامة للفطر لا تنتشر بسهولة فى الأوراق المتشحمة الداخلية كما يحدث فى الحراشيف الميتة الخارجية.

المقاومة لمرض الذبول البكتيرى فى الخيار

وجد ارتباط قوى فى الخيار بين الجين Bw المسئول عن مقاومة البكتيريا Erwinia trachephila المسببة لمرض الذبول البكتيرى، والجين M الخاص بحالة الجنس المؤنث، مقابل حالة الأزهار الكاملة. ومن المعروف أن حالة الجنس فى الخيار يتحكم فيها عاملان وراثيان هما:

1 - العامل M المسئول عن إنتاج أزهار مؤنثة، وآليله m المسئول عن إنتاج أزهار كاملة.

2 - العامل F الذى يتحكم فى عدد العقد التى تظهر عليها أزهار مذكرة على الساق الرئيسية قبل بدء ظهور الأزهار المؤنثة أو الكاملة.

ونظرًا لانعزال العاملين M، و F مستقلين عن بعضهما البعض؛ لذا .. تتكون أربعة تراكيب وراثية كما يلى:

التركيب الوراثى	الشكل الظاهرى
M - ff	وحيد الجنس وحيد المسكن Monoecious
M - F -	مؤنث Gynoecious
mm ff	أزهار مذكرة وأزهار خنثى Andromonoecious
mm F-	أزهار خنثى فقط Hermaphroditic

وبذا .. فإن النبات المقاوم للبكتيريا يمكن أن يكون مؤنثًا، أو وحيد الجنس وحيد المسكن (عن Iezzoni & Peterson 1980).

التعدد الآليلى لجينات المقاومة

تعتبر المقاومة للفطر Melampsora lini المسبب لمرض الصدأ فى الكتان مثالاً لحالة التعدد الآليلى لجينات المقاومة للأمراض، فقد وجد Flor أن المقاومة لهذا المرض يتحكم فيها عدة آليلات فى خمسة مواقع جينية كما يلى:

الموقع	عدد آليلات المقاومة
K	1
L	12
M	6
N	3
P	4

ومن الطبيعى أن تعدد آليلات المقاومة فى نفس الموقع الجينى يُحد من العدد الكلى لعدد جينات المقاومة التى يمكن إدخالها فى الصنف الواحد.

كذلك يتحكم فى المقاومة للفطر Puccinia sorghi المسبب للصدأ العادى فى الذرة الجيـن Rp1 الذى يعرف له 15 آليـلاً تميز بأحـد الحــروف من a إلى n إلى جـانب رمز الجين. وباستثناء الآليل المتنحى rp1 المسئول عن القابلية للإصابة (عند وجوده بحالة أصيلة) .. فإن جميع الآليلات الأخرى سائدة ومسئولة عن المقاومة للفطر (Day 1974).

اختبار الآليلية

يستفاد من اختبارات الآليلية Allelism Test فى تحديد ما إذا كانت المصادر المختلفة لمقاومة مرض ما يتحكم فيها جين واحد أم جينات مختلفة، وبذا .. يمكن تجنب تكرار جهود التربية إذا ثبت وجود نفس جين - أو جينات - المقاومة للمرض فى المصادر المختلفة، وتجميع وتركيز جينات المقاومة إذا ثبت اختلاف الجينات التى تتحكم فيها بين مختلف المصادر.

ومن أمثلة اختبارات الآليلية تلك التى أجريت على الأصناف المقاومة للفطر Bremia lactucae المسبب لمرض البياض الزغبى فى الخس، حيث وجد ما يلى (Zink 1973).

1 - تحتوى الأصناف: Red Salad Bowl، و Bourguignonne، و Salad Trim، و Calicel، و Calmar، و E-4، و Valrio، و Imperial 410، و Valtemp، و Valverde على مقاومة بسيطة وسائدة متحصل عليها من إحدى سلالات L. serriola الروسية المنشأ هى P.I.91532.

2 - يحتوى الصنف Meikoningen على مقاومة بسيطة وسائدة يتحكم فيها جين آخر غير المتحصل عليه من السلالة P.I.91532. وأوضحت اختبارات الآليلية أن الجينين يورثان مستقلين عن بعضهما البعض.

3 - يحتوى كل من الصنفين Proeftuin's Blackpool، و Ventura على مقاومة يتحكم فيها جينان سائدان متشابهان فى كلا الصنفين، ويختلفان عن الجين المتحصل عليه من السلالة P.I.91532.

4 - تحتوى السلالة P.I.164937 على مقاومة يتحكم فيها جينان سائدان، يتماثل أحدهما مع الجين المتحصل عليه من السلالة P.I.91532 (جدول 6-1).

المقاومة الكمية

تكون الانعزالات فى حالات المقاومة الكمية Quantitative Resistance التى يتحكم فيها عـدد كبير من أزواج الجينـات المستقلة حسب مفكوك المعادلـة ذات الحدين: $(r + s)^n$، حيث إن:

n = عدد الآليلات المنعزلة.

r، و s: آليلات المقاومة، والقابلية للإصابة على التوالى.

جدول (6-1): نتائج اختبارات الآليلية لجينات المقاومة للبياض الزغبى فى الخس.

	الإنعزال		قيمة مربع		
التلقيح	مقاوم	مصاب	كاى (x2)		الاحتمال (p)
GL118 x Meikoningen	146	46	0.0111	(1 : 3)	0.70 -0.95
GL118 x Ventura	489	33	0.004	(1 : 15)	0.70-0.95
Calmar x Meikoningen	1252	78	0.337	(1 : 15)	0.50-0.70
GL118 x P. Blackpool	338	25	0.251	(1 : 15)	0.50-0.70
Calmar x P. Blackpool	1438	22	0.029	(1 : 63)	0.70-0.95
Calmar x Ventura	1265	19	0.057	(1 : 63)	0.70-0.95

فعندما يتحكم فى الصفة عامل وراثى واحد (زوج من الآليلات) تصبح n = 2، ويصبح مفكوك المعادلة كما يلى:

(r + s)2 = r2 + 2 rs + s2

أى إن الجيل ينعزل بنسبة 1 مقاوم أصيل : 2 خليط : 1 قابل للإصابة أصيل.

وعندما يتحكم فى الصفة زوجان من الجينات تصبح n = 4، ويصبح مفكوك المعادلة كما يلى:

(r + s)4 = r4 + 4 r3s + 6 r2s + 4 rs3 + s4

إى إن الانعزال فى الجيل الثانى يصبح بنسبة 1 : 4 : 6 : 4 : 1؛ وبذا .. فإن مفكوك المعادلة يعطى هرمًا من النسب الانعزالية كما يلى:

عدد العوامل الوراثية	النسبة الانعزالية للفئات المظهرية
1	1 : 2 : 1
2	1 : 4 : 6 : 4 : 1
3	1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1
4	1 : 8 : 28 : 56 : 70 : 56 : 28 : 8 : 1

أى إن عدد الفئات المظهرية يكون دائمًا: (2n + 1).

وعندما تكون n كبيرة بقدر كاف .. فإن عدد الفئات المظهرية المنعزلة يزداد إلى درجة إعطاء توزيع مستمر لشدة الإصابة فى الجيل الثانى دون وجود أية فواصل مميزة بين تلك الفئات.

وتجب ملاحظة الافتراضين التاليين بشأن تطبيق المعادلة السابقة:

1 - أن جميع المواقع الجينية متساوية من حيث تأثيرها على صفة المقاومة.

2 - أن تأثير هذه الجينات إضافى، وأن كل التباين الوراثى إضافى، لأن السيادة التامة لهذه الجينات - إن وجدت - تغير الانعزالات من 1 : 2 : 1 إلى 3 : 1، ومن 1 : 4 : 6 : 4 : 1 إلى 15 : 1 .. وهكذا تظهر دائمًا فئتان مظهرتان فقط؛ مما يعنى - فى حالة التأثير الإضافى للجينات - استمرارية الاختلافات مهما كثرت أعداد الجينات المتحكمة فى صفة المقاومة (Van der Plank 1982).

ومن أمثلة المقاومة الكمية: مقاومة النباتات البالغة للصدأ فى القمح وغيره من النجيليات (Walker 1966)، ومقاومة الفاصوليا العادية للفطر Fusarium solani f. phaseoli المسبب لمرض عفن الجذور الجاف (Hassan وآخرون 1971أ) وللفطر Thielaviopsis basicola المسبب لمرض عفن الجذور الأسود (Hassan وآخرون 1971ب).

ومن حالات الوراثة الكمية كذلك القدرة على تحمل الإصابة بفيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم فى السلالتين LA121، و LA373 من النوع L. pmpinellifolium. وقد أوضحت دراسات Hassan وآخرون (1984) أن مقاومة هاتين السلالتين كانت متنحية جزئيًّا، وذات نفاذية غير كاملة، وقدرت درجة توريثها على النطاق الضيق بنحو 0.52، و 0.27 فى السلالتين على التوالى، كما قدرت نسبة التباين الإضافى من التباين الوراثى الكلى لصفة القدرة على تحمل الإصابة بنحو 61%، و 44% فى السلالتين على التوالى أيضًا.

ولمزيد من التفاصيل عن التحليل الوراثى للصفات الكمية .. يراجع أحد المراجع المتخصصة، مثل حسن (2005 جـ).

ويلخص جدول (6-2) أوجه الاختلاف بين كل من المقاومة البسيطة والكمية.

جدول (6-2): أوجه الاختلاف بين كل من المقاومة البسيطة والكمية.

وجه المقارنة	المقاومة البسيطة	المقاومة الكمية
المظهر العام	تكون واضحة تمامًا - تظهر فى أى مرحلة من النمو، أو على النباتات البالغة فقط.	لا تكون تامة الوضوح - تظهر عادة فى طور البادرة ولكنها تزيد مع تقدم النبات نحو النضج.
طبيعة المقاومة	ترجع إلى مناعة النبات، أو فرط حساسيته للطفيل.	ترجع إلى نقص معدلات ودرجة الإصابة، وتقدم المرض، وتكاثر المسبب المرضى.
الكفاءة	عالية الكفاءة ضد سلالات معينة من المسبب المرضى	تختلف، ولكنها تكون ضد جميع سلالات المسبب المرضى.

الوراثة	يتحكم فيها جين واحد ذو تأثير رئيسى.	يتحكم فيها عدة جينات ذات تأثيرات صغيرة، ولكنها متجمعة.
الثبات	عرضة للفقد الفجائى بالسلالات الجديدة من المسبب المرضى	لا تتأثر بالتغيرات فى جينات الضراوة التى يحملها المسبب المرضى.
الأسماء الأخرى	الرأسية Vertcal	الأفقية Hortzontal
التى تعرف بها	المتخصصة السلالة -Race specific	غير المتخصصة السلالة -Race Non-
	البادرة Seedling	specific
	المفرقة Differential	النبات الناضج Mature Plant
	البسيطة Monogenic	النبات البالغ Aduit Plant
		الحقل Field
		المتجانسة Uniform

المقاومة البسيطة الكاذبة Pseudomonogenic Resistance

أطلق Van der Plank (1984) هذا المصطلح على حالات المقاومة التى تتميز بعدم استمرارية الاختلافات Discontinuous Variations بالرغم من تحكم عدة جينات فى وراثتها، وهى إحدى خصائص الأمراض التى تنطبق عليها نظرية "الجين للجين" التى يُقابَل فيها كل جين للمقاومة فى العائل بجين للضراوة فى المسبب المرضى.

يمكن فى أمراض كهذه أن يتحكم زوج واحد من الجينات فى المقاومة أيًّا كانت أزواج الجينات الأخرى - المسئولة عن المقاومة - التى توجد معه. ففى القمح .. يوجد 35 جينًا على الأقل تتحكم فى المقاومة للفطر P. recondita tritici المسبب لمرض صدأ الأوراق. تأخذ هذه الجينات الرمز الأساسى Lr.

ويمكن لزوج واحد من الجينات (Lr Lr) أن يجعل النبات مقاومًا برغم وجود أزواج الجينات المتنحية (lrlr) فى بعض أو كل الـ 34 موقعًا جينيًّا الأخرى. وتحدث هذه الحالة عند وجود أى من هذه الآليلات بحالة سائدة، أى إن جرعة واحدة من المقاومة (Lr) تسود على 69 جرعة من القابلية للإصابة (lr).

والفرق الأساسى بين حالة المقاومة البسيطة الكاذبة، وبين وراثة الصفات العادية - فى حالات السيادة التامة - أن نسب التراكيب الوراثية المنعزلة فى الجيل الثانى تكون دائمًا 3ن (حيث ن تمثل عدد أزواج العوامل الوراثية المنعزلة)، بينما يكون عدد الأشكال المظهرية كما يلى:

2ن للصفات العادية مع السيادة التامة.

3ن للصفات العادية مع غياب السيادة.

يظهر شكل مظهرى واحد أو شكلان مظهريان على الأكثر فى حالات المقاومة البسيطة الكاذبة (مع توفر شرط السيادة التامة لجميع الجينات)، ويظهر هذا الشكل المظهرى الوحيد (وهو الذى يكون خاصًّا بالقابلية للإصابة) عندما تفقد جميع جينات المقاومة فاعليتها بسبب وجود جينات للضراوة تقابلها فى المسبب المرضى. أما الشكلان المظهريان فيكونان خاصين بالمقاومة والقابلية للإصابة عندما يكون أحد، أو بعض، أو كل جينات المقاومة فعالة.

وعندما تكون جميع جينات المقاومة محتفظة بفاعليتها، فإن الانعزالات الوراثية تظهر - فى الجيل الثانى - كما يلى:

	الانعزالات فى الجيل الثانى	
عدد أزواج الجينات	**مقاوم**	**قابل للإصابة**
2	8	1
3	26	1
4	80	1
ن	3ن - 1	1

هذا مع العلم بأن النباتات القابلة للإصابة فى هذا المثال (عندما تحتفظ جميع جينات المقاومة بفاعليتها) تمثل التركيب الوراثى الأصيل المتنحى فى جميع الجينات.

ولقد تم التعرف على عديد من جينات المقاومة فى حالات أمراض كثيرة كهذه (مقاومة الجين للجين) منها: صدأ الساق فى القمح (P. graminis tritici)، وصدأ الأوراق فى القمح (P. recondita tritici) وصدأ التاج فى الشوفان (P. coronata avenae)، والبياض الدقيقى فى الشعير (Erysiph graminis hordei) وصدأ الكتان (Melampsora lini). وتوجد عديد من الحالات المرضية الأخرى التى يعرف فيها عدد أقل من جينات المقاومة.

وتسمح حالة عدم استمرارية التباين فى الشكل المظهرى فى التعرف على جينات المقاومة كل على حدة، وتأخذ هذه الجينات أرقامًا فى سلسلة إلى جانب رمز أساسى لها، مثل: Sr فى حالة صدأ الساق (Stem Rust)، و Lr فى حالة صدأ الأوراق (Leaf Rust) و Yr فى حالة الصدأ المخطط أو الأصفر (Yellow Rust)، و Pm فى حالة البياض الدقيقى (Powdery Mildew)، و H فى حالة المقاومة لذبابة هسّيان (Hessian fly) ... وهكذا. ويستخدم الحرف r للإشارة إلى المقاومة (resistance) فى رموز معظم هذه الجينات، بل إنه يستخدم كرمز أساسى لجينات المقاومة للندوة المتأخرة فى البطاطس.

وأهم ما يميز هذه المجموعات من جينات المقاومة أنها:

1 - لا تتأثر كثيراً بتركيز اللقاح Inoculum عند إجراء اختبارات المقاومة.

2 - لا تتأثر كثيراً بالعوامل البيئية باستثناءات قليلة.

ارتباط الجينات المسئولة عن المقاومة بعضها ببعض

من أمثلة الارتباطات المرغوبة بين الجينات حالة المقاومة للفطر Erysiphe graminis المسبب لمرض البياض الدقيقى فى الشعير، حيث أوضحت الدراسات الوراثية أن المقاومة يتحكم فيها 17 آليلاً - على الأقل - توجد فى سبعة مواقع جينية على الأقل، وأن أحد عشر آليلاً من هذه الآليلات - تحمل فى الموقع Ml-a أو بالقرب منه على الكروموسوم رقم 5، وترتبط معظم هذه الجينات ببعضها، وتورث كمجموعة واحدة، ويفيد هذا الارتباط فى إبقاء هذه الجينات معًا حتى عندما لا يجرى الانتخاب إلا لبعضها فقط. إلا أن العبور يمكن أن يفصل بين هذه الجينات عند الرغبة فى ذلك (Russell 1978).

المقاومة السيتوبلازمية Cytoplasmic Resistance

تتحكم فى المقاومة لبعض مسببات الأمراض عوامل سيتوبلازمية، أى أنها تورث عن طريق السيتوبلازم، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - الإصابة بفيرس x البطاطس فى الجنس Capsicum:

تُحدث العدوى بفيرس X البطاطس إصابة جهازية بالتبرقش فى النوع C. annuum بينما تكون الأعراض على صورة بقع موضعية متحللة فى النوع C. pendulum، وتكون أعراض الإصابة فى الجيل الأول للهجين بينهما على صورة تبرقش جهازى عند استخدام C. annuum كأم فى التهجين، بينما تكون على صورة بقع موضعية عند استخدام C. pendulum كأم.

2 - تعتبر الإصابة بالفطر Cochliobolus heterostrophus المسبب لمرض لفحة الأوراق الجنوبية فى الذرة من أشهر حالات الوراثة السيتوبلازمية. ظهر المرض بصورة وبائية على جميع هجن الذرة التى تحتوى على سيتوبلازم تكساس "أو الـ T cytoplasm" خلال عامى 1972، و 1973، ثم تبين أن هذا السيتوبلازم يحمل صفة القابلية للإصابة بالمرض، علمًا بأن جميع هذه الهجن كانت تحتوى على مصدر واحد للسيتوبلازم (T cytoplasm) الذى تتوفر فيه صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى.

ولا يمكن التعرف على حالات الوراثة السيتوبلازمية إلا بعد إجراء التلقيحات العكسية ودراستها. ونظرًا لأن هذه التلقيحات لم تجر فى عديد من الدراسات .. فإنه من المعتقد أن تأثير السيتوبلازم على وراثة المقاومة للأمراض لم يأخذ حقه من الدراسة.

3 - المقاومة للبياض الدقيقى فى فاصوليا أدزوكى:

أوضحت دراسات Kaushal & Singh (1991) على الجيلين الأول والثانى للتلقيح بين سلالتى أدزوكى (Vigna angularis): EC 15226، و HPU 51 أن المقاومة للفطر Erysiphe polygoni المسبب لمرض البياض الدقيقى يتحكم فيها عوامل سيتوبلازمية.

تأثر وراثة المقاومة بعوامل أخرى

تتأثر وراثة المقاومة للأمراض بعوامل أخرى بيئية وحيوية، نذكر منها ما يلى:

1 - سرعة نمو العائل:

أوضحت الدراسات الوراثية أن الجين Yd2 المسئول عن المقاومة لفيرس التقزم الأصفر فى الشعير barley yellow dwarf virus يكون سائدًا سيادة تامة، أو متنحيًا تمامًا حسب سرعة نمو نباتات الشعير.

2 - عمر النبات:

تختلف أحيانًا وراثة المقاومة لنفس المرض باختلاف عمر النبات عند إجراء اختبار تقييم المقاومة. فمثلاً .. تكون مقاومة الخيار لفطر Cladosporium cucumerinum - المسبب لمرض الجرب بسيطة وذات سيادة غير تامة فى طور البادرات الصغيرة جدًّا، ولكن السيادة تكون تامة فى مراحل النمو الأخرى، وبذا .. يمكن فى هذه المرحلة المبكرة من النمو تمييز النباتات الأصيلة عن الخليطة فى صفة المقاومة. ويتعين عند إجراء اختبار المقاومة لهذا المرض أن تكون الحرارة من 17-18ْم، علمًا بأنه تصعب إصابة النباتات القابلة للإصابة فى حرارة 22ْم أو أعلى من ذلك.

3 - درجة الحرارة السائدة:

تتأثر المقاومة للأمراض كثيراً بدرجة الحرارة، وهو أمر نتناوله بالتفصيل فى موضع آخر من هذا الكتاب. كما قد تؤثر درجة الحرارة السائدة على وراثة المقاومة للمرض، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

أ - يكون الجين Sr6 المسئول عن المقاومة للفطر P. graminis tritici فى القمح سائدًا فى حرارة 18ْم أو أقل، ولكنه يكون متنحيًّا فى حرارة أعلى من 24ْم.

ب - أكسب الجين Tm1 نباتات الطماطم مقاومة سائدة لنحو 53% من عزلات فيرس موزايك التبغ فى حرارة 17ْم، بينما كانت النباتات قابلة للإصابة بجميع عزلات الفيرس على حرارة 30ْم. وبالمقارنة .. أكسب الجين Tm2 النباتات مقاومة سائدة ضد 80% من سلالات الفيرس عند 17ْم، وضد 34% فقط منها عند حرارة 30ْم، أما الجين Tm2a (وهو Tm22) .. فقد أكسب النباتات مقاومة سائدة ضد 58% من عزلات الفيرس عند 17ْم، وضد 7% منها فقط عند 30ْم (عن Van der Plank 1984).

4 - تواجد مسببات مرضية أخرى والتفاعل معها:

من أمثلة حالات تأثر المقاومة بالتفاعل بين المسببات المرضية المختلفة التى قد تتواجد معًا ما يلى:

أ - مقاومة الذبول الفيوزارى وذبول فيرتيسيلليم فى الطماطم:

يتحكم فى مقاومة كل من الفطرين جين واحد سائد؛ الجين I فى حالة مقاومة الذبول الفيوزارى، والجين Ve فى حالة المقاومة لذبول فيرتسيليم، وبينما لا يكسب الجين المسئول عن مقاومة الذبول الفيوزارى نباتات الطماطم مقاومة ضد الفطر المسبب لذبول فيرتسيليم Verticiilum albo-atrum عند تعريض النباتات لفطر الفيرتسيليم فقط، فإنه يكسبها مقاومة ضد هذا الفطر عندما تتعرض النباتات لكلا الفطرين - الفيوزاريم والفيرتسيليم -، وبذا .. تبدو النباتات كما لو كانت حاملة لجين المقاومة للفيرتسيليم حتى ولو لم تكن حاملة له.

ب - مقاومة الذبول الفيوزارى ونيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم:

يتحكم الجين Mi فى المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور والجين I فى المقاومة للذبول الفيوزارى، ولكن الجين I يصبح عديم الفاعلية ضد فطر الفيوزاريم فى حالة تعريض النباتات للإصابة بالنيماتودا. ولذا .. فإنه عند وجود المسببين المرضين معًا فى التربة فإن ظهور تأثير الجين I من عدمه يتوقف على وجود أو غياب الجين Mi.

طرز ومستويات المقاومة لمسببات الأمراض

تكثر المصطلحات المستخدمة فى وصف طرز ومستويات المقاومة للأمراض، وقد ذكرنا العديد منها، وسيأتى ذكر المزيد، ولكننا نلقى الآن بعض الضوء على طرز معينة من المقاومة.

تحمل الإصابة Tolerance

يمكن الاستفادة من النباتات القادرة على تحمل الإصابة **Tolerant** فى الزراعة عند عدم توفر المقاومة فى الأصناف التجارية، ولكن ذلك الأمر لا يخلو من المخاطر، خاصة فى حالات الأمراض الفيروسية، ذلك لأن الأصناف القادرة على تحمل الإصابة تصاب بالمسبب المرضى الذى سرعان ما ينتشر بأعداد هائلة فى مساحات كبيرة، خاصة عندما يكون تكاثر المحصول خضريًّا. وبذا .. تصبح هذه النباتات مصدرًا للإصابة لكل من الأصناف الأخرى من المحصول التى تكون أقل تحملاً للإصابة، وللمحاصيل الأخرى التى تصاب بنفس المسبب المرضى. كما قد تتأثر هذه الأصناف ذاتها - القادرة على تحمل الإصابة - فى حالات الإصابة الشديدة بالمسبب المرضى. ومما لا شك فيه أن وجود أعداد كبيرة من النباتات المصابة يعطى فرصة أكبر لظهور طفرات جديدة من المسبب المرضى قد تكون أكثر ضراوة من السلالات المنتشرة بالفعل.

ومن المخاطر الأخرى التى تترتب على زراعة الأصناف القادرة على تحمل الإصابة تعرض النباتات لأمراض خطيرة أحيانًا لدى إصابتها بفيرس آخر معين. ففى الطماطم مثلاً .. لا تُحدث الإصابة بأى من فيروسى موزايك التبغ، أو إكس البطاطس أعراضًا شديدة، أو نقصًا كبيراً فى المحصول، ولكن تواجد الفيروسين معًا يصيب الطماطم بمرض التخطيط المزدوج **double streaak**، وهو مرض خطير يقضى على محصول الطماطم. وتزيد مخاطر هذا المرض عندما تكون أصناف الطماطم المزروعة قادرة على تحمل الإصابة بفيرس موزايك التبغ.

إن المقاومة والقدرة على تحمل الإصابة خاصيتان مختلفتان تورثان مستقلتين، وعلى المربى أن يستفيد من كلتيهما إن وجدتا معًا فى نفس المحصول. وبينما تعمل المقاومة على إبقاء الطفيل خارج النبات .. فإن القدرة على تحمل الإصابة تعمل على الحد من تأثير الطفيل على النبات بعد إصابته له.

ولمزيد من التفاصيل عن القدرة على تحمل الإصابة والتربية لتلك الخاصية .. يراجع Buddenhagen (1981).

فرط الحساسية

تعمل فرط الحساسية Hypersensitivity - من جانب العائل - إلى موت جميع الخلايا التى أصابها الطفيل، وكذلك جميع الخلايا المجاورة لها بسرعة شديدة؛ الأمر الذى يؤدى إلى عزل الطفيل ويمنع انتشاره فى بقية أجزاء النبات. تؤدى هذه الحالة إلى جعل النباتات تامة المقاومة تحت ظروف الحقل، ولذا .. فإنها تسمى أحيانًا - باسم مناعة الحقل Field Immunity.

هذا .. إلا أن مدى جدوى فرط الحساسية فى مقاومة الطفيل يتوقف على نوع الطفيل، وطبيعة الإصابة، وطريقة حدوثها؛ ففى حالات الإصابات الجهازية التى تجرى بتطعيم نباتات مصابة على أخرى سليمة .. نجد أن الطعم يشكل مصدرًا متجددًا للطفيل، الذى يؤدى - فى نهاية الأمر - إلى موت النباتات المطعوم عليها إن كانت ذات حساسية مفرطة لهذا الطفيل. وتظهر هذه الحالة - بوضوح - فى الإصابات الفيروسية، حيث يظهر التحلل - بداية - فى أنسجة القمم النامية، ثم ينتقل منها إلى بقية أجزاء النبات إلى أن يقضى عليه. ولذا .. يفضل إجراء اختبار التطعيم للكشف عن حالات فرط الحساسية فى حالات الأمراض الفيروسية.

تـورث حالة فرط الحساسية - عــادة - كصفة بسيطة. ومن أمثلتها حـالات المقاومة لفيروسات البطاطس A، و XB، و Yc، و X التى تتحــكم فيها الجينات السائدة Na، و Nb، و Nc، و Nx على التوالى، علمًا بأن فيـرس البطاطس XB هو سـلالة من فيرس البطاطس X، وفيرس البطاطس Yc هو سـلالة قليلة الأهمية من الفيرس الهام PVY. كذلك تشترك الجينات Nx، و Nb فى تحديد حالات فرط الحساسية لفيرس X البطـاطس الذى يتوفـر منه أربع مجموعات من السلالات تأخذ الأرقام 1، و 2، و 3، و 4؛ فالنباتات التى لا تحمل أيًّا من الجينين السائدين تكون قابلة للإصابة بجميع السـلالات، بينما تكون النباتات الحـاملة لكلا الجينين السائدين قابلة للإصابة بمجموعـة السـلالات رقم 4 فقط، وذات حسـاسية مفرطـة لمجموعـات السلالات الثلاث الأخـرى .. وهكذا، كما هو مبين فى جدول (6-3) (عن Wiersema 1972).

جدول (6-3): العلاقة بين جينات فرط الحساسية ومجموعات سلالات فيرس إكس البطاطس (PVX).

	التركيب	مجموعة السلالات(أ)			
الصنف	الوراثى	1	2	3	4
Arran Banner	nxnb	S	S	S	S
Epicure	Nxnb	R	S	R	S
Arran Victory	nxNb	R	R	S	S
Ceaigs Defiance	NxNb	R	R	R	S

(أ): R مفرط فى الحساسية (مناعة حقلية)

S قابلة للإصابة.

المقاومة القصوى

يستخدم مصطلح المقاومة القصوى Extreme Resistance (أو المناعة Immunity) - عادة - فى وصف بعض حالات المقاومة للفيروسات، حيث يكون النبات مقاومًا لجميع سلالات الفيرس .. حتى ولو أجريت العدوى بطريقة التطعيم، ويبدو أن المقاومة القصوى هى حالة قصوى لفرط الحساسية.

لا تؤدى العدوى بطريق التطعيم للنباتات ذات المقاومة القصوى - كما ذكرنا - إلى موت النباتات، كما يحدث بالنسبة للنباتات ذات الحساسية المفرطة، ولكن قد تظهر بها أحيانًا بعض النقط المتحللة، كما يمكن عزل آثار من الفيرس منها - خاصة من الجذور.

وإذا أجرى تطعيم مزدوج لنبات مصاب بفيرس ما على آخر ذى مقاومة قصوى لهذا الفيرس، وهذا بدوره مطعم على نبات ثالث سليم ولكنه قابل للإصابة بنفس الفيرس .. فإنه يمكن عزل الفيرس من النباتين الأول والأخير، بينما يندر عزله من القطعة الوسطية، التى تسمح - فقط - بمرور الفيرس من خلالها دون أن يتكاثر فيها.

ومن أمثلة حالات المقاومة القصوى مقاومة البطاطس لفيرس إكس البطاطس التى يتحكم فيها جين واحد (Xi)، ولفيروسى Y، و A البطاطس اللذين يتحكم فيهما جين واحد آخر؛ حيث نجد فى الأجيال الانعزالية أن النباتات ذات المقاومة القصوى لفيرس Y تكون ذات مقاومة قصوى لفيرس A كذلك (عن Wiersema 1972).

المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار (المستدامة)

عَرَّف Johnson (1983) المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار (المقاومة المستدامة sustainable أو المتينة durable) بأنها المقاومة التى تستمر فعالة فى حماية الصنف الحامل لها من المسبب المرضى أو الآفة مع استمرار زراعة ذلك الصنف فى بيئة مناسبة لهذا المسبب المرضى أو تلك الآفة. ولم يحدد Johnson فترة معينة يمكن بعدها اعتبار المقاومة مستدامة، بل ترك ذلك لكل حالة مرضية على حدة.

وجدير بالذكر أن المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار ليست مرادفا للمقاومة الأفقية، وهى قد تكون بسيطة، أو يتحكم فيها عدد قليل، أو كبير من الجينات.

وقد أسلفنا فى الفصل الخامس شرح طبيعة هذا النوع من المقاومة، ونعرض - فيما يلى - لمزيد من الأمثلة على وراثتها.

من أمثلة المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار ما يلى:

1 - مقاومة بعض أصناف الكرنب لمرض الاصفرار (الذبول الفيوزارى) الذى يسببه الفطر Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans، وهى مقاومة رأسية أدخلت فى الزراعة فى أوائل القرن الماضى.

2 - المقاومة الجزئية لعديد من أصناف الشعير لمرض الصدأ البنى، الذى يسببه الفطر Puccinia hordei، وهى مقاومة كمية اعتمد فيها إنتاج الأصناف الجديدة على استبعاد أكثر الأصناف حساسية للفطر من برنامج التربية.

3 - مقاومة بعض أصناف القمح للفطر Septoria nordorum، وهى مقاومة كمية.

4 - مقاومة أصناف البطاطس التى تحمل جينات فرط الحساسية لبعض الفيروسات مثل جينات Nx، و Na التى تكسب النباتات مقاومة لفيروسى PVX، و PVA على التوالى، علمًا بأن بعض الأصناف التى تحمل هذين الجينين تزرع منذ أكثر من مائة عام دون أن تظهر سلالات فيروسية جديدة قادرة على كسر مقاومة أى منهما.

5 - صنف البطيخ Conqueror الذى أنتج فى عام 1911 كصنف مقاوم لمرض الذبول الفيوزارى.

6 - صنف فاصوليا الليما Hopi 5989 الذى أنتج فى عام 1932 كصنف مقاوم لنيماتودا تعقد الجذور، وما زال على درجة عالية من المقاومة (Russell 1978).

7 - مقاومة الطماطم للفطر Alternaria tomato المسبب لمرض تبقع رأس المسمار: يتحكم فى هذه المقاومة جين واحد أدخل فى الأصناف التجارية منذ عام 1926، ومنذ ذلك الحين لم يعد للمرض أية أهمية.

8 - مقاومة الفطر Periconia circinata المسبب لمرض مِللو Melo فى الذرة الرفيعة: اكتشفت المقاومة الرأسية للمرض فى نبات واحد من ثلاثة نباتات سليمة وجدت فى واحد من عدة حقول ظهر فيها المرض بحالة وبائية فى عام 1962. ويعد هذا النبات هو مصدر المقاومة للمرض فى جميع الأصناف التى أنتجت منذ ذلك الحين (Crill 1977).

9 - مقاومة البطاطس للفطر Synchytrium endobioticum المسبب لمرض التثألل.

10 - مقاومة الخيار للفطر Cercospora melonis المسبب لمرض تبقع الأوراق السركسبورى: أدخل الصنف المقاوم Butchers Disease Resister فى الزراعة فى عام 1930، ونقلت مقاومته إلى الأصناف الحديثة التى استمرت فى الحفاظ على مقاومتها (Fletcher 1984).

11 - مقاومة الفاصوليا للفطر Colletotrichum lindemuthianum، التى يتحكم فيها جين واحد.

12 - مقاومة الخيار للفطرين Cladosporium cucumerinum، و Corynespora cassiicola اللذين يتحكم فى كل منهما جين واحد.

13 - مقاومة الخيار لفيرس موزايك الخيار التى يتحكم فيا ثلاثة جينات.

14 - مقاومة الخس لفيرس موزايك الخس، وهى مقاومة بسيطة.

15 - مقاومة البسلة للفطر Fusarium oxysporium f. pisi، ويتحكم فيها جين واحد.

16 - مقاومة السبانخ للفطر Peronospora spinaciae المسبب لمرض البياض الزغبى، ويتحكم فيها زوجان من الجينات، ولفيرس موزايك الخيار، وهى صفة بسيطة (عن Dixon 1981).

17 - حالات المقاومة الأفقية ضد الندوة المتأخرة فى البطاطس (Johnson 1983).

18 - مقاومة الطماطم للفطر F. oxysporum f. lycopersici التى يتحكم فيها جين واحد سائد. ظلت هذه المقاومة فعالة فى مقاومة المرض بالرغم من ظهور سلالة جديدة من الفطر قادرة على إصابة النباتات الحاملة لجين المقاومة، لأن انتشارها ظل محدودًا.

وبالمقارنة مع حالات المقاومة ذات القدرة العالية على الاستمرار نجد - كما قدر Borlaug - أن متوسط عمر زراعة الصنف الجديد المقاوم لصدأ الساق فى القمح 4 سنوات فى المكسيك، و 5 سنوات فى كولومبيا. ويرجع السبب فى قصر تلك الفترة إلى وجود عوائل المسبب المرضى طول العام فى تلك المناطق الاستوائية؛ مما يسمح باستمرار تكاثر السلالات الجديدة العالية الضراوة عليها (Briggs & Knowles 1967).

19 - جينا البطاطس Nb، و Nx:

يتحكم كل من الجينين Nb، و Nx - منفردين - فى مقاومة البطاطس لفيرس إكس البطاطس، ويتواجد واحد من أيهما فى كثير من أصناف البطاطس، ويمكن كسر المقاومة التى يوفرها أى منهما من خلال طفرة فيروسية واحدة، وهى التى ظهرت - بالفعل - فى حالات كثيرة، وخاصة تلك التى كانت قادرة على كسر مقاومة الجين Nb. هذا إلا أن الطفرات القادرة على كسر مقاومة جينا المقاومة - معًا - أقل شيوعًا وأقل قدرة على البقاء فى الطبيعة (عن Harrison 2002).

20 - جينا الطماطم Tm-1، و Tm-22:

عند زراعة أصناف طماطم تحمل الجين Tm-1 لمقاومة فيرس موزايك الطماطم فى الصوبات فإن سلالات الفيرس القادرة على إصابة النباتات الحاملة لهذا الجين غالبًا ما تظهر فى خلال ستة شهور مسببة أعراضًا طبيعية للموزايك، ولا تلبث السلالة الجديدة أن تصبح هى السائدة فى الصوبة. وإذا ما استبدلت زراعة تلك الأصناف الحاملة للجين Tm-1 بأصناف أخرى قابلة للإصابة بالفيرس فإن الانتخاب يأخذ طريقًا عكسيًّا حيث تكون السلالة الجديدة القادرة على كسر مقاومة الجين Tm-1 أقل قدرة على البقاء من السلالة العادية. أما فى حالة زراعة أصناف الطماطم الحاملة للجين Tm-22 فإن، ظهور سلالات الفيرس القادرة على كسر المقاومة التى يوفرها هذا الجين يعد أمرًا نادرًا، وهى - إن تكونت - لا تكون قادرة على التكاثر والانتشار فى الأصناف المقاومة، ولا تكون قادرة على المنافسة مع السلالة العادية فى الأصناف القابلة للإصابة.

21 - جينا البسلة sbm-1، و sbm-2:

يوفر هذان الجينان مقاومة تامة للبسلة ضد الإصابة بفيرس موزايك البسلة المحمول بالبذور، ولا تعرف أى حالات كسرت فيها تلك المقاومة بتكوين سلالات جديدة من الفيرس.

22 - جينا التبغ 'N، و N:

يوفر هذان الجينان مقاومة للتبغ ضد فيرس موزايك التبغ من خلال تفاعل فرط الحساسية، ولكنهما يختلفان كثيراً فى القدرة على البقاء واستمرار الفاعلية ضد سلالات الفيرس الجديدة؛ فبينما تكسر مقاومة الجين 'N بسهولة فإن الجين N أثبت قدرة عالية على استمرار فاعليته تحت ظروف الحقل.

23 - جين البطاطس Rx1:

يوفر هذا الجين مقاومة قصوى للبطاطس ضد فيـرس إكـس البطاطس بمنع الفيرس من التكاثر فى مرحلة مبكرة جدًّا من الإصابة؛ فضلاً عن إن بروتوبلاست خلايا البطاطس الحاملة لهذا الجين - والتى تحقن بجين إكس البطاطس - تصبح غير قادة على دعم تكاثر فيروسات أخرى غير قريبة منه، مثل فيرس موزايك التبغ وفيرس موزايك الخيار. وحتى إذا ما وصلت إلى نباتات البطاطس الحاملة للجين Rx1 سلالة من فيرس إكس البطاطس قادرة على كسر مقاومة هذا الجين (وهى التى يكون بها طفرتان معينتان فى الغلاف البروتينى) فإن تلك السلالة لا يمكنها التكاثر فى نباتات البطاطس الحاملة للجين Rx1 إذا ما كان قد سبق ذلك حقنها بسلالة فيرس إكس البطاطس العادية.

24 - جين البطاطس Ry:

لا يعرف أى طراز من فيرس واى البطاطس قادر على كسر مقاومة الجين Ry فى البطاطس (عن 2002 Harrison).

أمثلة متنوعة لحالات وراثة المقاومة للأمراض وخصائصها

نوضح - فيما يلى - أمثلة متنوعة لبعض حالات وراثة المقاومة للأمراض وخصائصها (عن Walker 1959، و 1966 إلا إذا ذكر خلاف ذلك).

حالات مقاومة يتحكم فى وراثتها جين واحد

من أمثلة حالات المقاومة للأمراض التى يتحكم فى وراثتها جين واحد ما يلى:

العائل	المرض/الأمراض	الطفيل	المقاومة
الفاصوليا	تبرقش	Pod Mottle Virus	سائدة
الفاصوليا	موزايك	Bean Mosaic Virus	سائدة
الفاصوليا	البياض الزغبى	Pytophthora phaseoli	سائدة
الفاصوليا	البياض الدقيقى	Erysiphe polygoni	سائدة
الفاصوليا	الصدأ	Uromyces phaseoli typica	سائدة
الخيار	الجرب	Cladosporium cucumerinum	سائدة
الخس	البياض الدقيقى	Erysiphe cichoracearum	سائدة
البسلة	الذبول الفيوزارى	Fusarium oxysporum f. pisi	سائدة

البسلة	البياض الدقيقى	Erysiphi pisi	متنحية
الفلفل	موزايك	Pepper Mosaic Virus	سائدة
السبانخ	البياض الزغبى	Peronospora effusa	سائدة
السبانخ	موزايك	Cucuwber Mosaic Virus	سائدة
الطماطم	ذبول فيرتسيليم	Verticillium albo-artum	سائدة
الطماطم	الذبول الفيوزارى	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	سائدة
الطماطم	تبقع الأوراق السبتورى	Septoria lycopersici	سائدة
الطماطم	ذبول متبقع	Tomato Spotted Wilt Virus	متنحية
الطماطم	عفن الرقبة	Alternaria solani	ذات سيادة غير تامة
الفاصوليا	موزايك أصفر	Yellow Bean Mosaic Virus	متنحية

العائل	المقاومة
فول الصويا	متنحية
الكرنب	طراز A - سائدة
الفجل	بسيطة
الخيار	بسيطة
البسلة	بسيطة
الفاصوليا	متنحية (الجين a)
الكرنب	سائدة
القنبيط	سائدة
البطاطا	سائدة

هذا .. ويعرف أكثر من 20 جينًا للمقاومة لسلالات مختلفة من صدأ الأوراق فى القمح، بينما يزيد عدد الجينات الخاصة بمقاومة صدأ الساق عن 30 جينًا (عن Singh 1993).

حالات مقاومة يتحكم فى وراثتها زوجان من الجينات

من أمثلة حالات المقاومة التى يتحكم فى وراثتها زوجان من الجينات ما يلى:

العائل	المرض/الأعراض	الطفيل	المقاومة
البصل	البياض الزغبى	Peronospora destructor	الجينان سائدان
فاصوليا الليما	تبرقش		الجينان سائدان
الفاصوليا	موزايك	Common Bean Mosaic Virus	الجينيان متنحيان

ويُستدل من دراسات Barker وآخرين (1994) أن مقاومة البطاطس (السلالتان G7032، و G7445) لفيرس التفاف أوراق البطاطس يتحكم فيها زوجان من الجينات السائدة غير المرتبطة والمكملة لبعضهما البعض؛ بمعنى أن كليهما ضرورى لاكتساب صفة المقاومة.

حالات مقاومة يتحكم فى وراثتها ثلاثة أزواج من الجينات

من أمثلة حالات المقاومة التى يتحكم فى وراثتها ثلاثة أزواج من الجينات ما يلى:

العائل	المرض/الأعراض	الطفيل	المقاومة
البصل	الاسوداد	Colletotrichum circinans	تؤثر فيها السيادة والتفوق
البسلة	لفحة أسكوكيتا	Ascochyta pisi	الجينات سائدة

الخيار	الموزايك - مرحلة الأوراق الفلقية	Cucumber Mosaic Virus	الجينات مكملة لبعضها
الفاصوليا	موزايك	Common Bean Mosaic Virus	الجينات I، و s، و a

حالات مقاومة يتحكم فى وراثتها أكثر من ثلاثة أزواج من الجينات

من أمثلة حالات المقاومة التى يتحكم فى وراثتها أكثر من ثلاثة أزواج من الجينات ما يلى:

العائل	المرض/الأعراض	الطفيل	المقاومة
الصليبيات	تدرن الجذور	Plasmodiophora brassicae	
الفاصوليا	عفن الجذر الفيوزارى	Fusarium oxysporum f. solani	جينات مكملة لبعضها
الكرنب	الاصفرار	Fusarium oxysporum f. conglutinans	طراز B
الطماطم	تلطيخ الأوراق	Fulvia fulva	جينات رئيسية

حالات تتنوع فيها وراثة المقاومة بين مختلف المصادر

تعد المقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا العادى Common Bean Mosaic Virus فى الفاصوليا من الحالات القليلة التى تختلف فيها وراثة المقاومة ما بين زوج واحد، وزوجين، وثلاثة أزواج من الجينات كما يلى:

1 - يتحكم فى المقاومة البسيطة جين واحد متنح يأخذ الرمز a.

2 - تتوفر مقاومة أخرى ضد بعض سلالات الفيرس، ويتحكم فيها جينان متنحيان يأخذان الرمزين s، و a، كما فى الأصناف: Michelite، و Sanilac، وسلالات Great Northern.

3 - تتوفر مقاومة ثالثة توجد فى معظم أصناف الفاصوليا الخضراء (مثل الصنف: Corbet Refugee) ويتحكم فيها جين سائد I مثبط لتأثير الجينين S، و A الخاصين بالقابلية للإصابة، وبذا .. يصبح الصنف مقاومًا. وتعد هذه المقاومة فعالة ضد جميع سلالات الفيرس.

وجدير بالذكر أن المقاومة فى الحالتين الأولى والثانية تكون متنحية، بينما تظهر المقاومة فى الحالة الثالثة سائدة، لأن الجين السائد I يظهر تأثيره حتى وإن لم يحمل النبات جينات المقاومة المتنحية s، و a.

ويبين جدول (6-4) أمثلة أخرى لحالات تتنوع فيها وراثة المقاومة بتنوع المصادر.

جدول (6-4): وراثة المقاومة غير البسيطة لبعض الأمراض فى بعض المحاصيل الزراعية (عن Agrawal 1998).

	المقاومة	
المحصول	**المحدودة الجينات oligogenic**	**المتعددة الجينات polygenic**
المحاصيل الحقلية:		
القمح	**أصداء الساق، التفحم المغطى - البياض الدقيقى - لفحة الأوراق - عفن الجذور العادى - تلطخ الأوراق**	**تلطخ العصافة - common bunt**

الشعير	صدأ الساق - صدأ الأوراق - اللفحة - البياض الدقيقى - التفحم السائب	--
الشوفان	صدأ التاج	--
الأرز	فيرس grassystunt - لفحة الأوراق البكتيرية - فيرس tungro	--
الذرة	اللفحة - لفحة الأوراق الشمالية - الصدأ الجنوبى - فيرس تقزم الذرة	البياض الزغبى - التخطيط البنى -لفحة أوراق الذرة الجنوبية - عفن الساق - التفحم - عفن الكوز
السورجم	صدأ السورجم	العفن الفحمى - عفن الحبوب الفيوزارى
الحمص	اللفحة - الذبول	--
الفول	--	التبقع الفحمى

تابع جدول (6-4).

	المقاومة	
المحصول	المحدودة الجينات oligogenic	المتعددة الجينات polygenic
فول الصويا	الموزايك - فيتوفثورا - الصدأ - تسوس الساق	--
دوار الشمس	الذبول	--
الكتان	البياض الدقيقى	--
البرسيم الحجازى	الذبول - فيتوفثورا	--
القطن	الذبول البكتيرى	--
الخضر:		
البسلة	اللفحة - فيرس مزايك البسلة - البياض الدقيقى	--
اللوبيا	فيرس التبرقش المصفر - فيرس موزايك اللوبيا - فيرس موزايك الخيار - تبقع أوراق سركسبورا - لفحة الأوارق البكتيرية	--
الفاصوليا	تبقع الأوراق الزاوى	العفن الأبيض - عفن الجذور الرايزكتونى - عفن بذور بثيم - الذبول الطرى - اللفحة الهالية
البامية	فيرس الموزايك واصفرار العروق	--
الخيار	تبقع الأوراق الزاوى	--

القنبيط	--	العفن الأسود
الكرنب	العفن الأسود	--
الخس	البياض الزغبى	--
الكرفس	الاصفرار الفيوزارى	--

ولمزيد من التفاصيل حول وراثة المقاومة للأمراض .. يراجع Boller & Meins (1992)، كما يتناول Staskawicz وآخرون (1995) موضوع الوراثة الجزيئية لمقاومة الأمراض.

حالات خاصة بالمقاومة للأمراض الفيروسية

حصر بحالات وراثة المقاومة للأمراض الفيروسية

إن المقاومة للفيروسات يتحكم فيها - فى معظم المحاصيل الزراعية - جين واحد سائد، وربما يرجع شيوع تلك المقاومة البسيطة إلى بحث المربين عنها أثناء برامج التربية، كما أن السيادة غير التامة قد تكون مجرد انعكاس لجرعة الجين فى الجيرمبلازم المختبر، أو بسبب العوامل البيئية. ويبين جدول (6-5) ملخصًا بعدد حالات المقاومة التى درست وطبيعة وراثتها.

جدول (6-5): ملخص بعدد جينات المقاومة للفيروسات المعروفة (عن Hull 2002).

حالات المقاومة	البسيطة Monogenic	القليلة الجينات Oligogenic والمتعددة polygenic
السيادة	81	10
التنحى	43	20
السيادة غير التامة	15	6
غير المعروفة	--	4
المجموع	139	40

وكان Provvidenti & Hampton (1992) قد قاما بعمل حصر لحالات المقاومة لعدد 56 فيروسًا من الـ Potyviridae فى 334 نوعًا نباتيًّا، وتبين أن غالبيتها كانت بسيطة وسائدة (60 جينًا للمقاومة)، أو بسيطة ومتنحية (39 جينًا للمقاومة)، بينما ظهرت بعض الحالات التى تحكم فيها جينين أو أكثر للمقاومة.

ويبين جدول (6-6) أمثلة متنوعة لحالات مقاومة سائدة، وأخرى غير تامة السيادة، وثالثة تبدو فيها المقاومة متنحية.

كما يقدم جدول (6-7) لعديد من حالات المقاومة البسيطة للفيروسات مع عرض لخصائصها.

أما جدول (6-8) فيعطى ملخصًا لحالات المقاومة للفيروسات ومدى انتشار تواجد السلالات القادرة على كسر تلك المقاومات.

جدول (6-6): أمثلة لحالات المقاومة للفيروسات فى المحاصيل الزراعية (عن Hull 2002).

جين المقاومة	النوع النباتي	الفيرس	تواجد السلالات القادرة على كسر المقاومة
المقاومة السائدة			
N	Nicotiana glutinosa	فيرس موزايك التبغ TMV	لا توجد
N'	N. sylvestris	فيرس موزايك التبغ	توجد

Zym(أ)	Cucurbita moschata	فيرس موزايك الزوكينى الأصفر ZYMV	لا توجد
Tm-2	Lycopersicon esculentum	فيرس موزايك التبغ	توجد
Tm-22	L. esculentum	فيرس موزايك التبغ	توجد
Nx, Nb	Solanum tuberosum	فيرس إكس البطاطس PVX	توجد
By, By-2	Phaseolus vulgaris	فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر BYMV	توجد
Rsv1, Rsv2	Glycine max	فير موزايك فول الصويا SbMV	توجد
المقاومة غير تامة السيادة:			
Tm-1	L. esculentum	فيرس موزايك التبغ	توجد
L1,L, L3	Capsicum spp.	فيرس موزايك التبغ	توجد
جينان	Hordeum vulgare	فيرس موزايك الشعير المخطط BSMV	توجد
عدة جينات	Vigna sinensis	فيرس موزايك اللوبيا الجنوبى SCPMV	؟

المقاومة تبدو متنحية:				
By-3	**P. vulgaris**	**فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر**	**لا توجد**
Sw2, Sw3, Sw4	**L. esculentum**	**فيرس ذبول الطماطم المتبقع TSWV**	**توجد**

أ - يتحكم فى المقاومة ثلاثة جينات، هى Zym-1، و Zym-2، و Zym-3، ولكن الجين Zym-1 فقط هو الأساسى، بينما يخفض الجينان Zym-2، و Zym-3 درجة القابلية للإصابة.

جدول (6-7): (صفحتان عريضة)

جدول (6-7): أمثلة على بعض حالات المقاومة للفيروسات وخصائصها (عن Fraser 1990).

جين المقاومة	المحصول	الفيرس(أ)	خصائص المقاومة أو جين المقاومة	تواجد السلالات القادرة على كسر المقاومـــــــة
جين سائد	**لفت الزيت**	**TuMV**	**مناعة**	**توجد**
Rcv	**فول الصويا**	**CCMV**	**فرط الحساسية**	**توجد**
جين سائد	**اللوبيا**	**CPMV**	**مثبط للبروتييز الفيروسى - فعال فى البروتوبلاست**	**توجد**
Wmv	**الفاصوليا**	**WMV-2**	**يمنع الإصابة الجهازية ويسمح بتكوين البقع الموضعية**	**لا توجد**
Hsw	**الفاصوليا**	**WMV-2**	**فرط الحساسية**	**لا توجد**
Wmv	***Cucumis metuliferus***	**PRV**	**مناعة – فعال فى البروتوبلاست**	**لا يعرف**
عدة جينات سائدة من أنواع *Solanum* البرية	**البطاطس**	**PVY**	**فرط الحساسية**	**توجد**
Ry	**البطاطس**	**PVY**	**مناعة - فعال فى البروتوبلاست**	**لا توجد**
جين سائد	**البطاطس**	**PLRV**	**يمنع تكاثر الفيرس**	**لا يعرف**
جين ذو سيادة غير تامة	**اللوبيا**	**SBMV**	**فعَّال جهازيًّا**	**لا يعرف**
جين ذو سيادة غير تامة	**الكرنب**	**TuMV**	**فعَّال جهازيًّا**	**توجد**
جين ذو سيادة غير تامة (Tlc)	**الطماطم**	**TYLCV**	**فعَّال جهازيًّا**	**لا يعرف**
جينان متنحيان	**الزوان**	**RMV**	**يمنع تكاثر الفيرس وحركته**	**توجد**
zym	**الخيار**	**ZYMV**	**يمنع تكاثر الفيرس**	**لا توجد**
sbm1, 2, 3, 4 (4 جينات مستقلة التأثير)	**البسلة**	**PSbMV**	**يمنـع تكـاثر الفـيرس، وظهـور الأعـراض والانتقال بطريق البذور**	**توجد**

تابع جدول (6-7).

جين المقاومة	المحصول	الفيرس(أ)	خصائص المقاومة أو جين المقاومة	تواجد السلالات القادرة على كسر المقاومة
جينان	الكوسة	CMV	مقاومة الانتشار من الأوراق التى حدثت فيها الإصابة	لا توجد
جينان (؟)	التبغ	TEV	الحد من شدة الأعراض	لا يعرف
جينان (A_1، و B_1)	القمح	MSSMV	فعّال جهازيًّا	لا يعرف
3-2 جينات	الذرة	MCDV	الحد من ظهور المرض	لا يعرف
مقاومة كمية	الزوان	RMV	مقاومة للإصابة بالفيرس	لا توجد

أ - الفيروسات المشار إليها فى الجدول هى كما يلى:

CCMV: Cowpea chlorotic mottle virus		ZYMV: zucchini yellow mosaic virus
CPMV: Cowpea mosaic virus		CMV: cucumber mosaic virus
WMV-2: watermelon mosaic virus-2		TEV: tobacco etch virus
SBMV: southern bean mosaic virus		WSSMV: wheat spindle streak mosaic virus
TYLCV: tomato yellow leaf curl virus		MCDV: maize chlorotic dwarf virus
PRV: papaya ringspot virus		PLRV: potato leaf roll virus
PVY: potato virus Y		PSbMV: pea sead-borne mosaic virus
RMV: ryegrass mosaic virus		TuMV: turnip mosaic virus

جدول (6-8): ملخص لحالات المقاومة للفيروسات والسلالات الفيروسية القادرة على كسر المقاومة (عن Fraser 1990).

الأساس الوراثى	عدد حالات المقاومة
جين واحد سائد للمقاومة	38
جين واحد ذو سيادة غير تامة	13
جين واحد متنح	18
إجمالى حالات المقاومة البسيطة	69
مقاومة يتحكم فيها عدد محدود من الجينات أو تؤثر فيها جينات محورة	18
العدد الإجمالى	87

	مظهر المقاومة				
	مناعة	بقع موضعية	تحديد موضعى جزئى	فعالة جهازيًا	غير معروفة
جينات سائدة	5	22	1	3	8
جينات ذو سيادة غير تامة	صفر	صفر	4	11	صفر
جينات متنحية	6	صفر	3	9	4

	تواجد السلالات القادرة على كسر المقاومة		
	توجد	لا توجد	غير معروفة
جينات سائدة	20	4	16
جينات ذو سيادة غير تامة	9	3	3
جينات متنحية	9	4	8
المجموع	38	11	27

التباينات فى وراثة المقاومة للأمراض الفيروسية

على الرغم من أن غالبية حالات المقاومة للفيروسات التى دُرست وجد أنه يتحكم فى كل منها جين واحد، فإنه تُعرف - كما أسلفنا ذكره - بعض الحالات التى كانت وراثتها مخالفة لذلك وأكثر تعقيدًا، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - تؤثر أحيانًا الخلفية الوراثية للصنف المقاوم على مدى فاعلية المقاومة، كما فى حالة مقاومة الشعير لفيرس اصفرار وتقزم الشعير - وهى مقاومة بسيطة تظهر على صورة قدرة على التحمل - وتعتمد على مدى نمو الصنف ذاته.

2 - فى حالات قليلة وجد أن المقاومة يتحكم فيها عدد محدود من الجينات، أى إنها oligogenic، كما فى حالة مقاومة الفاصوليا لفيرس موزايك الفاصوليا العادى.

3 - تبين فى حالات أخرى أن المقاومة كانت كمية، ولكن حدث أحيانًا - عندما درست نفس الحالات أن تغير استنتاج الباحثين بشأن وراثة المقاومة، ولا شك أن مرد ذلك هو إلى عوامل من قبيل زيادة إحكام السيطرة على العوامل البيئية أثناء إجراء اختبارات المقاومة، واستخدام دلائل متنوعة على مستويات الإصابة غير شدة الأعراض المرضية (مثل الاختبارات السيرولوجية)، واستخدام المعلمات الوراثية.

4 - تُعرف بعض الحالات التى تكون فيها المقاومة سائدة أو متنحية - كما تبدو من دراسة شدة أعراض الإصابة - إلا أن النباتات الخليطة فى صفة المقاومة يتكاثر فيها الفيرس بدرجة متوسطة بين التركيبين الوراثيين الأصيلين.

5 - يتحكم أحيانًا جينًا واحدًا فى المقاومة لأكثر من فيرس، ومن الأمثلة على ذلك ما يلى:

أ - يتحكم جين واحد متنح فى مقاومة الفلفل لكل من فيرس واى البطاطس، وفيرس إتش التبغ.

ب - يتحكم جين واحد متنحٍ - كذلك - (الجين mo) فى مقاومة البسلة لكل من فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر BYMV، وفيرس موزايك البطيخ رقم 2 WMV-2.

جـ - تتماثل أو تتشابه وتتقارب بشدة الجينات السائدة التى تتحكم فى تفاعل فرط الحساسية فى الفاصوليا ضد كل من فيرس موزايك الفاصوليا العادى BCMV، وفيرس موزايك اللوبيا (ذات العيون السوداء) BICMV، وفيرس موزايك فول الصويا SMV، وفيرس موزايك اللوبيا المنقول بالمنّ CAbMV، وفيرس موزايك البطيخ.

6 - نجد أحيانًا أن وراثة المقاومة تكون سائدة سيادة تامة إذا ما أخذت الأعراض فى الاعتبار، ولكنها تكون بدرجة أقل فى التركيب الوراثى الخليط عن الأصيل إذا ما أخذ تركيز الفيرس فى النبات فى الحسبان، وذلك كما فى حالة الجين Tm-1 لمقاومة فيرس موزايك التبغ فى الطماطم، وقد يحدث الأمر ذاته فى حالات المقاومة المتنحية كما فى حالة الجين bc-1 لمقاومة موزايك الفاصوليا العادى فى الفاصوليا (عن Fraser 1990).

7 - كثيرًا ما نجد أن جينات المقاومة لعدد من الفيروسات تتجمع فى مناطق محددة من الكروموسومات، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

أ - جينات المقاومة فى البسلة لسلالة العدس من كل من: فيرس موزايك البسلة المنقول بالبذور PSbMV، وفيرس موزايك الفاصوليا الأصفر BYMV، وفيرس موزايك البطيخ رقم 2 WMV-2، وفيرس اصفرار عروق الكلايتوريا Clitoria yellow vein virus (CYVV) ، والسلالة NL-8 من فيرس موزايك الفاصوليا العادى BCMV، وجميعها متنحية وترتبط بشدة على الكروموسوم رقم 2.

ب - يوجد ارتباط قوى بين جينى المقاومة لكل من فيرس موزايك البطيخ WMV وفيرس موزايك الزوكينى الأصفر ZYMV فى القاوون.

جـ - يوجد كذلك ارتباط قوى بين جينات المقاومة لكل من سلالة البطيخ لفيرس بقع البباباظ الحلقية PRSV-W، وفيرس موزايك الزوكينى الأصفر ZYMV، وفيرس موزايك البطيخ WMV، وفيرس موزايك البطيخ المغربى MWMV فى الخيار (عن Hull 2002).

بعض خصوصيات وراثة المقاومة للأمراض الفيروسية

1 - الارتباط بين وراثة المقاومة ومظهرها:

تظهر - عادة - ارتباطات معينة بين وراثة المقاومة ومظهر المقاومة فى حالات الأمراض الفيروسية؛ فنجد - مثلاً - أن المقاومة السائدة سيادة تامة ترتبط - عادة - بحالات المقاومة التى يتحدد فيها تواجد الفيرس فى موضع الإصابة ذاته؛ لتتكون بقع محلية. أما المقاومة ذات السيادة غير التامة فإن محدودية البقع المتكونة فيها تكون جزئية، وقد يحدث فيها انتشار جهازى للفيرس فى النباتات. أما المقاومة المتنحية فإن الفيرس قد ينتشر فيها جهازيًّا، أو أنها قد تظهر على صورة مناعة تامة (عن Fraser 1992).

2 - شيوع حالات تحمل الإصابة:

من الأمثلة الكلاسيكية على تحمل الإصابات الفيروسية حالة صنف التبغ أمباليما Ambalema الذى يصاب بفيرس موزايك التبغ جهازيًّا ويتكاثر الفيرس بداخل النبات، ولكن تبدو النباتات المصابة طبيعية المظهر تمامًا تحت ظروف الحقل. ويتحكم فى تلك الصفة زوجين من الجينات المتنحية، هما: rm1، و rm2، وربما تؤثر فيها - بدرجة ضعيفة - جينات أخرى كذلك.

3 - ندرة حالات المناعة:

لم تسجل سوى حالات قليلة جدًا من المناعة ضد الإصابات الفيروسية، ومن أمثلة ذلك تلك التى وجدت فى سبعة أصناف من الراسبرى ضد فيرس اصفرار عروق الراسبرى RVCV، وفى بعض أصناف اللفت السويدى ضد فيرس موزايك اللفت TuMV، وفى بعض أصناف الشعير ضد فيرس موزايك الشعير الأصفر BaYMV.

4 - شيوع حالات فرط الحساسية:

إن فرط الحساسية لفيرس ما تعنى تكوّن بقع محلية متحللة دون حدوث إصابة جهازية؛ بما يعنى أن فرط الحساسية تعد بمثابة مقاومة فعالة تحت ظروف الحقل. ومن أمثلة ذلك حالة تفاعل التحلل necrotic reaction ضد فيرس موزايك التبغ التى اكتشفت فى N. glutionsa والتى نقلت إلى عديد من أصناف التبغ.

5 - تواجد حالات من المقاومة المستدامة:

من بين حالات المقاومة للفيروسات النباتية التى دامت لفترات طويلة، ما يلى:

أ - مقاومة الفاصوليا لفيرس موزايك الفاصوليا العادى BCMV، وهى المقاومة التى اكتشفت فى صنف الفاصوليا القديم Corbett Refugee، والتى تم إدخالها فى عديد من أصناف الفاصوليا.

ب - مقاومة بنجر السكر لفيرس التفاف قمة البنجر BCTV، التى تم الانتخاب لها منذ عشرينيات القرن الماضى.

جـ - مقاومة فيرس موزايك اللفت TuMV فى الخس (عن Hull 2002).

حالات خاصة بالمقاومة للأمراض النيماتودية

يتحكم فى معظم حالات المقاومة المعروفة ضد النيماتودا الداخلية التطفل جينًا واحدًا رئيسيًّا، كما أن معظم تلك الحالات تكون فيها الإصابة (اختراق يرقات النيماتودا لجذور العائل) مصاحبة بتحلل موضعى شبيه بتفاعل فرط الحساسية.

ولقد ظهرت بالفعل - فى عديد من الحالات - عشائر نيماتودية كانت قادرة على إصابة النباتات الحاملة لجين المقاومة، كما يظهر فى جدول (6-9).

جدول (6-9): بعض حالات المقاومة للنيماتودا التى ظهرت مقابلها عشائر نيماتودية قادرة على إصابتها (عن Castagnone-Serena 2002).

النوع النباتى	جين المقاومة	النوع النيماتودى
Vigna unguiculata	Rk	Meloidogyne incognita
Lycopersicon esculentum	Mi	M. incognita، و M. javanica، و M. arenaria
Solanum fendleri	Rmc	M. chitwoodi
Capsicum annuum	Me	M. incognita
Solanum tuberosum	Hl	Globodera rostochiensis
Beta spp.	Hs1Pro-1	Heterodera schachtii

Glycine max	(كمية)	H. glycines
Avena sterilis	جينات A، و B، و C	H. aveneae

ولقد أمكن تحت الظروف المتحكم فيها فى الصوبات انتخاب سلالات من M. incognita كانت قادرة على إصابة نباتات الطماطم الحاملة للجين Mi، مع تحقيق زيادة مضطردة فى ضراوتها، ظهرت فى صورة زيادة فى أعداد الأفراد النيماتودية التى كانت قادرة على كسر جين المقاومة جيلاً بعد جيل. ولكن تجدر الإشارة إلى أن هذا الاختبار لم يكن ناجحًا لا مع كل عشائر النيماتودا التى درست ولا مع كل جينات المقاومة التى اختبرت.

إلاّ أن ذلك لا يعنى عدم ثبات أى مقاومة ضد النيماتودا، بل إن العكس هو الصحيح. ومن أكثر حالات المقاومة للنيماتودا - المعروفة - ثباتًا حالة الجين H1 المسئول عن مقاومة البطاطس للنيماتودا Heterodera rostochiensis الذى استعمل على نطاق واسع فى أصناف البطاطس منذ سبعينيات القرن العشرين دون أن تظهر عشائر نيماتودية قادرة على إصابتها (عن Castagnone-Sereno 2002).

وراثة المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى بعض محاصيل الخضر بصورة عامة

تتوفر المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى عديد من الأصناف التجارية لمحاصيل الخضر، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

المحصول	مصدر المقاومة	وراثة المقاومة
الطماطم	Anahu، و Small Fry، و VFN8	جين واحد سائد (Mi) لمقاومة الأنواع النيماتودية M. incognita، و M. javanica، و M. arenaria
الفلفل	Santanka	جين واحد سائد لمقاومة M. incognita
الفاصوليا	Alabama No. 1، و Manoa Wonder	ثلاثة أزواج من الجينات لمقاومة M. incognita
اللوبيا	Mississipi Silver	جين واحد سائد (Rk) لمقاومة M. incognita، و M. javanica
البطاطا		جين واحد سائد لمقاومة M. incognita، و M. javanica

هذا .. وحتى بداية ثمانينيات القرن العشرين كان يعرف أكثر من 450 صنفًا نباتيًّا من 13 عائلة يحمل كل منها مقاومة لنوع واحد - على الأقل - من أنواع الجنس Meloidogyne (عن Fussuliotis 1985، و Kalloo 1988).

وراثة المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم

لقد أمكن التعرف على مصادر كثيرة للمقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى النوع L. peruvianum، وعلى الرغم من أن كثيراً من تلك المصادر كانت حساسة للحرارة العالية (حيث تفقد فيها المقاومة فى حرارة تزيد عن 28ْم، كما هو الحال بالنسبة للجين Mi)، إلا أن يعضها كان أقل حساسية، حيث استمرت مقاومة النباتات فى بعض السلالات فى حرارة وصلت إلى 32ْم، كذلك أمكن التعرف على مصادر لمقاومة النوع النيماتودى M. hapla الذى لا يقاومه الجين Mi. وعن طريق إكثار السلالات الجديدة المقاومة من L. peruvianum بالعقل ثم التلقيح بينها وبين السلالات المتوافقة معها من بين السلالات المقاومة وغير المقاومة للنيماتودا، وكذلك من خلال التلقيحات الرجعية .. أمكن تمييز سبعة جينات جديدة سائدة للمقاومة أعطيت الرموز من Mi-2 إلى Mi-8 (جدول 6-10).

جدول (6-10): جينات المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى أنواع الجنس Lycopersicon (عن Williamson 1998).

الجين	المصدر(أ)	الخصائص	الوراثة
Mi-1 (= Mi)	L. peruvianum PI 1128657	المقاومة لكل من M. incognita، و M. javanica، و M. arenaria، وهى تفقد فى حرارة تزيد عن 30°م.	يوجد على الذراع القصير للكروموسوم السادس، وأمكن عزله
Mi-2	PI270435-2R2	المقاومة لـ M. incognita على حرارة 32°م	لا يرتبط بأى من Mi أو Mi-3، ولكنه يرتبط بـ Mi-8
Mi-3	PI126443-1MH	المقاومة لـ M. incognita	يوجد على الذراع القصير للكروموسوم 12 ويرتبط بـ Mi-5
Mi-4	LA1708-1	المقاومة لـ M. javanica، و M. incognita على 32°م	--
Mi-5	PI126443-1MH	المقاومة لكل من M. incognita، و M. javanica على 32°م	يرتبط بالجين Mi-3 على الكروموسوم 12
Mi-6	PI270435-3MH	المقاومة لـ M. incognita على 32°م	يرتبط بالجين Mi-7

Mi-7	PI270435-3MH	المقاومة لـ M. incognita على 25°م	يرتبط بالجين Mi-6
Mi-8	PI270435-2R2	المقاومة لـ M. incognita على 25°م	يرتبط بالجين Mi-2
--	L. chilense	المقاومة لـ M. javanica	--
	LA2884	وغير حساس للحرارة	--

أ - الرموز التى تلى الشرطة خاصة بسلالة معينة من الـ PI أو الـ LA المذكور.

ولقد أمكن عزل جينين مختلفين من نفس المنطقة الكروموسومية التى يوجد بها الجين Mi، أعطيا الرمزين Mi-1.1، و Mi-1.2. وقد أظهرت عمليات التحول الوراثى للطماطم - القابلة للإصابة بالنيماتودا - بكل من هذين الجينين أن وجود Mi-1.2 وليس Mi-1.1 - هو المسئول - وحده - لإكساب النباتات صفة المقاومة. كذلك تبين أن النباتات المحولة وراثيًّا بالجين Mi-1.2 كانت مقاومة - كذلك - لمن البطاطس؛ بما يعنى أن الجين الذى كان قد أعطى الرمز Meu-1 - والذى كان يعد مسئولاً عن مقاومة الطماطم لمن البطاطس - هو ذاته الجين Mi. هذا وقد كان أول اكتشاف للصلة بين المقاومتين عندما وجد أن جميع أصناف الطماطم المحتوية على الجين Mi كانت مقاومة - كذلك - لمن البطاطس.

ومن بين جميع جينات الـ Mi الجديدة فى الطماطم، حظى الجين Mi-3 بأكبر قدر من اهتمام الباحثين. وعن طريق معلم PCR باسم NR14 أمكن تحديد مكان الجين Mi-3 على الذراع القصير للكروموسوم 12؛ أى إنه لا يرتبط بالجين Mi الذى يقع على الكروموسوم 6.

هذا ولا يكسب الجين Mi-3 نباتات الطماطم مقاومة تامة كتلك التى يكسبها الجين Mi؛ حيث يحدث تكاثر ضعيف للنيماتودا فى وجود الجين Mi-3؛ الأمر الذى يندر حدوثه فى وجود الجين Mi. كذلك فإن سيادة الجين Mi-3 ليست تامة، حيث يكون مستوى المقاومة أعلى فى النباتات التى تحمل الجين بحالة أصيلة.

يوفر الجين Mi-3 مقاومة ضد عديد من عزلات M. incognita، و M. javanica التى يمكنها إصابة النباتات الحاملة للجين Mi (عن Williamson 1998).

وراثة المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى الباذنجان

لا تتوفر المقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى الباذنجان Solanum melongena. وعلى الرغم من توفر المقاومة فى النوع S. sisymbrifolium فإنه لا يتهجن مع الباذنجان؛ الأمر الذى حدى بالباحثين إلى محاولة نقل صفة المقاومة منه إلى الباذنجان عن طريق دمج بروتوبلاست النوعين معًا. وكما فى الأب المقاوم S. sisymbrifolium فإن الهجين الجسمى بينه وبين الباذنجان لم يحدث فيه أى تكاثر للنيماتودا على الرغم من احتواء جذوره - كما الأب المقاوم - على ثآليل كثيرة لا يوجد فيها سوى يرقات صغيرة غير ناضجة جنسيًّا (عن Fassuliotis 1990).

وراثة المقاومة لنيماتودا حوصلات البطاطس فى الجنس Solanum

تتوفر المقاومة لنيماتودا حوصلات البطاطس Globodera pallida فى عديد من الأنواع البرية للجنس Solanum، لعل من أبرزها المقاومة التى تتوفر فى النوع الثنائى التضاعف S. vernei، إلاّ أن نقل المقاومة منه إلى البطاطس لم يكن أمرًا سهلاً لأنها صفة كمية، كما لا توجد حدود فاصلة بين مختلف التراكيب الوراثية فى استجابتها للعدوى بالنيماتودا إضافة إلى ضعف خصوبة S. vernei وقلة أعداد البذور التى تتكون عند التهجين بينه وبين البطاطس (عن Fassuliotis 1990).

الفصل السابع

طبيعة المقاومة للأمراض

تعد دراسات طبيعة المقاومة Nature of Resistance للأمراض من الدراسات الأساسية التى تعود نتائجها على برنامج التربية بفوائد عديدة؛ فهى تفيد المربى فى تسهيل عملية الانتخاب للمقاومة فى برنامج التربية، وتفيده فى تفهم طبيعة العلاقة بين العائل والطفيل، وما يترتب على ذلك من اختيار الطرق الأخرى المناسبة لمكافحة المرض. هذا بالإضافة إلى أن مثل هذا النوع من الدراسة تُخرج المربى من روتين برامج التربية إلى مجال آخر للبحث العلمى يتصل بصميم عمله.

وقد حظيت دراسات طبيعة المقاومة للأمراض بعديد من المقالات العلمية الاستعراضية التى تختص بجوانب معينة من هذا الموضوع، كما سيأتى بيانه فى هذا الفصل. كذلك خُصصت كتب كاملة لنفس الموضوع، ولعل المجلد الخامس من Horsfall & Cowling (1980) من أشمل المراجع المبكرة التى تناولت موضوع طبيعة المقاومة للأمراض من جميع جوانبه.

التقسيم العام لطبيعة المقاومة للأمراض

تقسم طبيعة المقاومة للأمراض فى النباتات إلى قسمين رئيسيين، هما المقاومة السلبية، والمقاومة النشطة، كما يضم كل قسم من هذين القسمين ما يعرف بالمقاومة التركيبية (أى التى يمكن مشاهدتها سواء أكان ذلك بالعين المجردة، أم ميكروسكوبيًّا)، والمقاومة الكيميائية والفسيولوجية، هذا .. مع التسليم بأن جميع التغيرات التركيبية هى - فى الأساس - كيميائية، مثلها فى ذلك مثل التغيرات الفسيولوجية.

يطلق على المقاومة السلبية Passive Resistance أسماء المقاومة الاستاتيكية Static Resistance، ومقاومة المكونات الطبيعية للنبات Constitutive Resistance؛ لأنها ترجع إلى ما يحتويه النبات من مكونات طبيعية، وإلى خصائصه المورفولوجية،أو الهستولوجية، أو الفسيولوجية، أو الكيميائية التى تجعل منه عائلاً غير مناسب لنمو وتكاثر المسبب المرضى؛ الأمر الذى يؤدى إلى منع الإصابة المرضية أو الحد منها.

وجدير بالذكر أن تلك الخصائص والمكونات التى تجعل النبات مقاومًا هى صفات موروثة توجد فيه سواء تواجد المسبب المرضى فى البيئة المحيطة بالنبات، أم لم يتواجد فيها، كما يكون لتلك الخصائص والمكونات دور آخر فى النبات.

أما المقاومة النشطة Active Resistance فإنه يطلق عليها - أيضًا - اسم المقاومة الديناميكية Dynamic Resistance، والمقاومة المستحثة Inducible Resistance؛ لأنها تتولد - أو تُستحث - بعد حدوث الإصابة بالمسبب المرضى. وتعود المقاومة فى هذه الحالة إلى أسباب وراثية تمكّن النبات من الاستجابة لهجوم الطفيل بطريقة تجعله يُحدث تغيرات تركيبية أو كيميائية تُحِد من نمو وانتشار المسبب المرضى. يوجد هذا النوع من المقاومة غالبًا - إن لم يكن دائمًا - فى حالات المقاومة الرأسية، وما يورث هنا هو قدرة النبات على الاستجابة لهجوم الطفيل.

وغنى عن البيان أن النشاط الحيوى النباتى ذو أهمية قصوى فى المقاومة النشطة، وتعرف حالات عديدة تختفى فيها مقاومة النباتات للأمراض لدى معاملتها بالمواد الموقفة للتنفس، فمثلاً: وجد أن مقاومة سيقان الطماطم للذبول الفيوزارى تزول لدى معاملتها بأى من مثبطات التنفس: Thiourea، أو 2,4-D، أوSodium dithiocarbamate، أو Sodium fluoride، واستنُتج من ذلك أن المقاومة ترتبط بالنشاط الحيوى للعائل، وربما يتحكم فيها مادة تُنتج باستمرار، ويلزم لإنتاجها طاقة يحصل عليها من التنفس (عن Walker 1965).

إن النباتات تدافع عن نفسها أمام أى هجوم من المسببات المرضية (الفيروسات والكائنات الدقيقة والنيماتودا) بعدد من الآليات الدفاعية تبدأ بتلك التى تتواجد فيها قبل أن تتعرض للإصابة، مثل طبقة الأديم الشمعية، والمركبات المضادة للكائنات الدقيقة التى يزداد تركيزها فى مواضع استراتيجية؛ بهدف منع استعمار المسبب المرضى للنسيج النباتى. كذلك تحتوى النباتات على دفاعات خلوية تُستَحث بعد تعرضها للإصابة وتعمل على منع أى استعمار تالٍ للنسيج النباتى إذا ما تمكن المسبب المرضى من اختراق الحواجز الدفاعية التركيبية. وتوصف تلك الدفاعات المستَحثة بأنها نشطة؛ ذلك لأنها تَحدث استجابة لهجوم المسبب المرضى، وتعتمد على الأيض النباتى لتؤدى وظيفتها. ويمكن حث الاستجابات الدفاعية النشطة بكل أنواع المسببات المرضية من فيروسات، وبكتيريا، وفطريات، ونيماتودا. وتمتلك الخلايا الحية لمعظم الأعضاء النباتية تلك القدرة على بدء استجابات دفاعية نشطة. هذا .. ويظهر المرض حينما يتمكن مسبب مرضى محتمل من التغلب على الوسائل الدفاعية السلبية للنبات، وتجنب استحثاث استجابات دفاعية نشطة فى النسيج المعرض للإصابة فى توقيت مبكر، أو أن يثبط حث تلك الاستجابات الدفاعية بإفرازه لسموم أيضية (عن Hutcheson 1998).

هذا .. وتعمل وسائل النبات الدفاعية - التى تعقب الإصابة المرضية - من خلال تنشيط جينات معينة فى النبات؛ مما يـؤدى إلى تمثيل إنزيمات جديدة (لم تكن موجودة فى النبات قبل حدوث الإصابة) بمستويات معينة تُسهم فى إنتاج مركبات تحد من قدرة المسبب المرضى على الاستمرار فى البقاء والازدهار فى موضع الإصابة؛ مما يؤدى إلى وقفها.

ومن بين المؤثرات التى يُحدثها تنشيط تلك الإنزيمات، ما يلى:

1 - حالة فرط الحساسية.

2 - تمثيل إنزيمات الشيتنيز chitinases، والـ β-1,3 glucanases.

3 - تمثيل البروتينات ذات العلاقة بالـ pathogensis.

4 - تمثيل مثبطات إنزيمات الـ polygalacturonases الفطرية.

5 - تمثيل إنزيمات hydrolases أخرى.

6 - تمثيل إنزيمات الـ peroxidases، والـ polyphenoloxidases.

7 - تمثيل الفيتوألاكسينات phytoalexins.

8 - زيادة دعم الجدر الخلوية.

9 - عزل البقع المرضية بالـ hydroxyproline-rich glycoproteins.

10 - تمثيل الـ phenolic polymers، واللجنين، والسيوبرين، والكالوز .. وجميعها تسهم فى عزل البقع المرضية.

إن حث التفاعلات النشطة ضد الميكروبات التى تصيب النبات ينتج عندما تستشعر خلايا النبات وجود مادة أو جزيئات مثيرة elicitors (أو signal molecules) للمسبب المرضى.

ومن أمثلة المواد المثيرة الـ biotic التى تعمل على حث التفاعلات النشطة: عديدات التسكر polysaccharides، والقطع المحدودة التسكر oligosaccharide fragments، والبروتينات، والجليكوبروتينات، والأحماض الدهنية.

ومن أمثلة المواد المثيرة غير الحية abiotic التى تعمل على حث التفاعلات النشطة: الأشعة فوق البنفسجية، وأيونات العناصر الثقيلة، والمنظفات الصناعية، والـ xenobiochemicals، والحرارة العالية، والبرودة الشديدة (عن Agrawal 1998).

ولقد تناول الكثيرون موضوع الاستجابات الدفاعية فى النباتات ضد مسببات الأمراض (المقاومة النشطة)، نذكر منهم: Kombrink & Somssich (1995)، و Birch وآخرون (2000)، و Punja (2004).

تنوع وسائل المقاومة النباتية تبعًا للمراحل التى تمر بها عملية الإصابة

يمكن فهم الوسائل التى تكتسب بها النباتات صفة المقاومة ضد الفطريات التى تنتقل جراثيمها عن طريق الهواء، مثل فطريات الأصداء، والبياض الدقيقى، والبياض الزغبى، والفطر المسبب للندوة المتأخرة فى البطاطس (الفطر Phytophthora infestans)، وذلك بتحليل الخطوات التى تتطلبها عملية الإصابة، وهى التى تبدأ بعملية انتقال الجراثيم واستقرارها على الأعضاء النباتية القابلة للإصابة من العائل، وتنتهى بعملية تكوين الممصات، وهى التى قد تتبعها تفاعلات فرط حساسية تقود إلى المقاومة، وذلك كما يلى:

1 - استقرار الجراثيم على الأعضاء النباتية القابلة للإصابة:

تعد عملية انتقال الجراثيم الفطرية واستقرارها على الأعضاء النباتية القابلة للإصابة (spore deposition) عملية سلبية تعتمد على الصدفة وحدها، حيث يعمل الهواء أو رذاذ الماء على وصول الجراثيم إلى النسيج الذى يمكنها بدء الإصابة من خلاله، ولا تمتلك النباتات سوى قليل من الوسائل التى تتمكن بها من تفادى تلك الجراثيم.

ومن بين الصفات التى تتمكن بها النباتات من تفادى عملية وصول الجراثيم الفطرية إليها ما يلى:

أ - صفة الأوراق التى تأخذ وضعًا رأسيًّا، مقارنة بالأوراق الأفقية، كما فى حالة صدأ الأوراق - الذى يسببه الفطر **Puccinia striiformis** - فى القمح.

ب - صفة الشعيرات السطحية، وهى التى قد تزيد أو تخفض من فرصة حدوث إصابة ناجحة؛ فهى قد تحجز الجراثيم فيما بينها، وتزيد - بالتالى - من احتمالات الإصابة، أو قد تُبقى على الجراثيم بعيدًا عن سطح الأوراق، فتمنع - بالتالى - أى فرصة لإنباتها.

لكن تبقى الحقيقة فى أن تأثير التباينات فى طبيعة النمو النباتى يكون أكبر على المناخ المحيط بالأعضاء النباتية **microclimate** منه على استقرار الجراثيم عليها.

2 - إنبات الجراثيم ونمو الأنابيب الجرثومية:

بعد أن تحط الجراثيم على السطح النباتى القابل للإصابة يتعين عليها أن تبدأ فى الإنبات؛ الأمر الذى يتطلب - غالبًا - توفر رطوبة نسبية عالية أو رطوبة حرة أحيانًا. ويمكن للنبات أن يؤثر فى معدل إنبات الجراثيم بثلاث طرق، هى: عدم توفير محفز للإنبات، وجود مركبات مثبطة للإنبات على سطح الأوراق، والخصائص المورفولوجية التى تؤثر فى فترة بقاء الأوراق مبتلة بعد المطر أو الندى وفى الرطوبة النسبية للهواء المحيط بالنموات الخضرية.

بالنسبة للمركبات التى تحفز إنبات الجراثيم فإنها لا تلزم - غالبًا - فى حالة الفطريات التى تُحمل بواسطة الهواء، مثل فطريات الأصداء والبياض الدقيقى والبياض الزغبى؛ فهى يمكن أن تنبت بسهولة حتى فى الماء المقطر، إلا أن الأمر يختلف بالنسبة لكثير من المسببات المرضية والآفات التى تعيش فى التربة، والتى تجدى فيها التربية للمقاومة بإنتاج أصناف تعوزها محفزات الإنبات تلك.

كذلك لم يُعرف كثير من حالات المركبات التى توجد على الأسطح النباتية وتثبط إنبات الجراثيم، ومن أمثلتها القليلة المعروفة ارتباط المقاومة للفطر Peronospora tabacina بعديد من مستخلصات الكيوتين بالأسطح الورقية فى التبغ، إلا أن التباينات فى هذه الصفة - داخل النوع - ليست بالقدر الذى يسمح بالتعميم وبناء استراتيجية للتربية للمقاومة للفطر على أساسها. وفى حالات مرضية أخرى (مثل المقاومة للفطرين: Rhynchosporium secalis فى الشعير، و Magnaporthe grisea فى الأرز) حدث تثبيط لإنبات الجراثيم فى بعض الأصناف، لكن لم يمكن عزل مركبات معينة كانت مسئولة عن ذلك.

أما بالنسبة للخصائص المورفولوجية النباتية التى تمنع إنبات الجراثيم، فهى كثيرة ونخص بالذكر تلك المتعلقة بصفات الأسطح الورقية وطبيعة بنيان النمو النباتى plant architecture. فمثلاً .. وجد أن مقاومة الفول السودانى للصدأ ترتبط بزيادة خاصية طرد أو نفض الأوراق للماء؛ الأمر الذى يحد من بقاء الجراثيم على السطح الورقى، كما يحد من إنباتها. كما أن النموات الخضرية الكثيفة المندمجة تؤدى إلى سوء التهوية حول النمو النباتى وزيادة رطوبة الهواء المحيط به؛ مما يؤدى إلى زيادة طول فترات الندى، وزيادة شدة الإصابة بكثير من الأمراض.

يلى إنبات الجراثيم تكوينها لجسم يربطها بخلايا العائل يعرف باسم appressorium؛ الأمر الذى يتطلب تعرف الأنبوبة الجرثومية على العائل، وإلاّ فإنها قد لا تتمكن من تكوين ذلك الرابط. يحدث ذلك - على سبيل المثال - فى بعض أصناف الـ Lolium حيث تُكَوِّن الشموع التى تغطى طبقة الأديم رقائق تمنع الجراثيم الكونيدية للفطر Blumeria graminis من التعرف على سطح ورقة العائل أو الاتصال بها؛ حيث تستمر فى تكوين عديد من الأنابيب الجرثومية القصيرة دون حدوث أى اتصال لها بالعائل. كذلك وجد أن إصابة أغماد أوراق الأرز بالفطر Rhizoctonia solani ترتبط سلبيًّا بكمية الشمع الأديمى المترسبة على السطح الخارجى للأغماد، حيث أعاق الشمع تكوين الـ appressoria ووسائد الإصابة infection cushions، وهى تجمعات من غزل الفطر رايزكتونيا يكونها قبل أن يبدأ بالإصابة.

3 - العثور على ثغر:

تحتاج عديد من الفطريات إلى ثغور لكى تمر من خلالها إلى الأنسجة الداخلية لعوائلها. ويبدو أن أنابيب الإنبات الجرثومية لبعض المسببات المرضية، مثل **Cladosporium fulvum** (مسبب مرض عفن الأوراق **leaf mould** فى الطماطم)، و **Mycospharella graminicola** (مسبب مرض لطخة الأوراق السبتورية فى القمح) .. يبدو أنها تصل إلى الثغور من خلال نموها العشوائى، كما أنها قد تمر - أحيانًا - من فوق الثغر دون أن تدخل فيه، وربما يكون مرد ذلك إلى انغلاق الثغر. وفى مثل هذه الفطريات لا يمكن أن يكون للعائل دور واضح فى وصول الفطر إلى الثغور. لكن نجد فى فطريات أخرى مثل الأصداء أن الأنابيب الجرثومية تلتصق أولاً بالسطح الورقى قبل أن تتقدم بعد ذلك فى اتجاه أحد الثغور.

ونجد فى معظم ذوات الفلقتين أن الثغور تتوزع عشوائيًّا على سطح الورقة، إلاّ أن كل ثغر يكون محاطًا بدوائر من خلايا البشرة. وقد تبين أن الأنابيب الجرثومية للفطر المسبب للصدأ فى الفاصوليا تجد الثغور بالنمو عموديًّا على اتجاه التحام خلايا البشرة المحيطة بالثغر.

وبالنسبة للفطريات التى تصيب عوائلها عن طريق الثغور فهى إما تدخل مباشرة من خلال فتحة الثغر كما فى كل من **Mycosphaerella graminis**، و **Cladosporium fulvum**، وإما أن تكوِّن **appressorium** أولاً قبل أن تخترق الثغور كما فى معظم فطريات الأصداء. وباعتبار أن كثيرًا من الفطريات المتخصصة يمكنها تعرف الثغور حتى فى غير عوائلها إن لم تختلف كثيرًا مورفولودجيًّا عما فى عوائلها، فإن ذلك يعنى أن تعرف الثغور لا يعد أداة من أدوات التخصص الباثولوجى، لكن ذلك الأمر لا ينطبق عند اختلاف الأنواع النباتية؛ ففى صدأ الفاصوليا - على سبيل المثال - يمكن لجراثيم الفطر الممرض **Uromyces appendiculatus** تعرف ثغور أصناف الفاصوليا، بينما تمر فوق ثغور القمح دون أن تتمكن من تمييزها.

4 - اختراق الجدر الخلوية وتكوين الممصات:

تحصل المسببات المرضية على الغذاء من عوائلها - بعد اختراقها لجدرها الخلوية - إما عن طريق هيفات خلوية وحويصلات إصابة infection vesicles (كما فى كل من Phytopththora infestans، و Bremia lactucae)، وإما من خلال تكوين أجسام ماصة haustoria (كما فى فطريات البياض والأصداء). وقد تحدث مقاومة العائل بسبب منعه للمسبب المرضى من تكوين الأجسام الماصة، كما فى حالة الجين Ml-g المسئول عن المقاومة للفطر Blumeria graminis f. sp. hordei فى الشعير، والمقاومة لفطر الصدأ Melampsora lini فى الكتان (والمتحصل عليها من Linum angustifolium)، ومقاومة الجين mlo للفطر B. graminis f. sp. graminis فى الشعير، والجينات L34، و L46. وغيرهما - الخاصة بمقاومة القمح للفطر Puccinia triticina.

5 - استعمار المسبب المرضى للعائل وتجرثمه:

قد تظهر مقاومة العائل أثناء محاولة استعمار المسبب المرض له وتجرثمه، ومن الأمثلة على ذلك ما يلى:

أ - حدوث استجابة فرط حساسية قوية بمجرد اختراق المسبب المرضى للجدر الخلوية وبدء تكوينه لأول ممصاته من الغزل الفطرى الداخلى؛ الأمر الذى يوقف انتشار الإصابة، إلاّ أن هذا الاختراق للجدر الخلوية ليس شرطًا حتميًّا لحدوث استجابة فرط الحساسية فى جميع الفطريات.

ب - تكوين الفيتوألاكسينات التى توقف نمو وانتشار المسببات المرضية.

جـ - تأثر المسبب المرضى سلبيًّا بمركبات الأيض الثانوية التى قد توجد بصورة طبيعية فى العائل.

د - تمثيل بروتينات مضادة لنشاط المسببات المرضية.

هـ - حدوث استجابة ضعيفة بفرط الحساسية، تؤدى إلى حدوث إصابة ضعيفة تظهر على صورة اصفرار وتحلل فى النسيج النباتى المحيط بموقع الإصابة. وفى حالات كهذه يكون تجرثم المسبب المرضى أقل مما يحدث فى النباتات القابلة للإصابة.

و - قد يؤدى منع العائل للمسبب المرضى من تكوين الممصات إلى بطء تطوره وبطء تجرثمه (عن Niks & Rubiales 2002).

المقاومة السلبية التركيبية

ترجع المقاومة السلبية التركيبية Structural Resistance إلى وجود تراكيب معينه فى النبات - سابقة للتعرض للإصابة بالمسبب المرضى - تكسبه صفة المقاومة، ومن أبرز أمثلتها ما يلى:

شكل الأوراق، والزاوية التى يصنعها عنق الورقة مع الساق، وطبيعة النمو

فمثلاً .. تستقبل أصناف القمح ذات الأوراق القائمة الضيقة عددًا أقل من جراثيم الصدأ مما تستقبله الأوراق العريضة أو الأفقية (Hooker 1967). كما تحتفظ الأصناف ذات النمو الخضرى المفتوح المنفرج بقطرات الندى فى الصباح لمدة أقصر من الأصناف ذات النمو الخضرى المتزاحم المندمج؛ وبذا .. تكون الأصناف الأولى أقل عرضة للإصابة بالأمراض، وهو ما يلاحظ فى عديد من الأنواع المحصولية. ويعد ذلك فى نظر البعض نوعًا من المقاومة الأفقية لأن شكل النبات وطبيعة نموه يقللان من عدد جراثيم الفطر التى يمكنها الإنبات وإحداث الإصابة، إلا أن آخرين يعتبرون ذلك إحدى حالات الإفلات من الإصابة، لأن النباتات تكون قابلة للإصابة، ولو توفرت لها الظروف الملائمة للإصابة لأصيبت.

سمك طبقة الأديم

إن الأديم هو الطبقة الخارجية المغلفة لخلايا البشرة epidermis والبشرة الجذرية rhizodermis. وتجد بعض الفطريات طريقها إلى داخل النبات من خلال الفتحات الطبيعية فى الأديم كالثغور، أو من خلال الجروح والثقوب التى توجد فيه، بينما تخترق فطريات أخرى طبقة الأديم مباشرة لتصل إلى داخل النبات.

وحينما يشكل الأديم عائقًا أمام الإصابة بالفطريات فإن ذلك يرجع غالبًا إما إلى سمك طبقة الأديم ذاتها، وإما إلى ما قد يحتويه من مواد تمنع نمو الفطر.

وبرغم أن الأديم قد يشكل عائقًا أمام الإصابة فى حالات قليلة - كما هى الحال بالنسبة للفطر Botrytis cinerea فى الطماطم والفاصوليا وغيرهما - إلا أن الملاحظ بصورة عامة أن هذه الطبقة رقيقة جدًّا، ولا يمكن أن تعد عاملاً هامًا فى المقاومة للأمراض، فهى لا يمكن أن تشكل حاجزًا أقوى من الجدر الخلوية السيليلوزية. وفى المتوسط لا يزيد محتوى الورقة من تلك الطبقة على 0.1 مجم/سم2 من سطحها. وحتى فى الحالات التى يتكون فيها أديم قوى وسميك، فإن ذلك لا يمنع اختراق الفطريات لها. كذلك فشل الباحثون فى التوصل إلى أية علاقة مؤكدة بين التركيب الكيميائى للأديم ومقاومة الأمراض.

ومع ذلك .. فمن الأمور المُسلَّم بها أن الشموع المكونة لطبقة الأديم قد تساعد على سرعة انزلاق قطرات الماء (رذاذ ماء الرى أو الندى) - مع ما تحمله من مسببات الأمراض - من على الأوراق. كما قد تقلل تلك الطبقة من إفراز المواد الغذائية وغيرها من المركبات التى قد يفرزها العائل وتحفز نمو المسبب المرضى (عن Martin 1964).

وعمومًا .. فإن الطفيليات تكون أكثر قدرة على اختراق الأعضاء النباتية الصغيرة الغضة مما تكون عليه الحال عند تقدم هذه الأعضاء فى العمر. ويبين جدول (7-1) تلك العلاقة بالنسبة لقدرة الفطر Macrosporium tomato على اختراق جلد ثمرة الطماطم (عن Dixon 1981).

جدول (7-1): العلاقة بين عمر ثمرة الطماطم، ومقاومة جلد الثمرة للثقب، والإصابة بفطر Macrosporium tomato.

عمر الثمرة (يوم)	الضغط اللازم (جم) لثقب الثمرة	الثمار المصابة (%)
7	0.97	100
14	2.99	100
21	4.21	85
28	4.90	49
35	5.08	23
41	5.96	صفر
48	6.74	صفر
55	5.56	صفر

كثافة الشعيرات على الأسطح النباتية

عندما تنتشر شعيرات غزيرة على سطح الأوراق والسيقان، فإن قطرات الندى اللازمة لإنبات جراثيم الفطريات وحركة البكتيريا ربما لا تصل إلى الثغور والفتحات الطبيعية الأخرى؛ وبذا .. لا تحدث الإصابة. كما تكون لهذه الشعيرات أهمية بالغة بالنسبة لإعاقة تغذية الحشرات الناقلة للفيروسات.

تركيب الثغور وموعد فتحها

لا تتوفر أية أدلة على وجود علاقة بين تركيب الثغور ومقاومة الأمراض، باستثناء الأمراض البكتيرية. إلا أنه قد يكون لمساحة الثغور وعددها تأثير فى شدة الإصابة. كذلك يلعب توقيت فتح الثغور دورًا كبيراً فى مقاومة بعض الأمراض، كما فى صدأ الساق فى القمح. ففى بعض الأصناف لا تفتح الثغور إلا فى وقت متأخر من الصباح بعد أن تكون قطرات الندى قد تبخرت. علمًا بأن قطرات الماء ضرورية لإنبات الجراثيم، والثغور المفتوحة ضرورية لاختراق الفطر للنبات. فهنا .. تنبت جراثيم الفطر فى وجود قطرات الندى، ثم يجف الندى وتموت الجراثيم النابتة قبل أن تفتح الثغور. ويطلق على هذا النوع من المقاومة اسم المقاومة الوظيفية Functional Resistance. هذا .. ولا يشكل تأخر انفتاح الثغور أية عقبة أمام الإصابة بجراثيم الفطر P. recondita - المسبب لصدأ الأوراق - لأنها تكون قادرة على اختراق الثغور المغلقة.

الجدر الخلوية السمكية الصلبة وطبقات الخلايا الفلينية

فمثلاً .. تتكوّن على الأسطح المجروحة لجذور البطاطا - فى الظروف البيئية المناسبة - طبقات فلينية تعمل على التئام الجروح وخفض تبخر الماء منها، ولكنها تفيد كذلك فى الدفاع ضد مسببات الأمراض. وفى بداية عملية تكوين هذه الطبقات الفلينية الواقية .. تتسوبر (أى يترسب السيوبرين) أولاً فى الجدر الخارجية للخلايا الحية فى السطح المقطوع، ويعقب ذلك تكوين بيريدرم الجروح الذى ينقسم ليعطى الخلايا الفلينية. ويحدث ذلك بسرعة فى درجة حرارة من 30-35ْم، ورطوبة نسبية من 90-95%.

وعمومًا .. فإن طبقات السيوبرين أو الفلين أو اللجين أو الكالوز التى تتواجد طبيعيًّا وتعمل على فصل الأنسجة الداخلية للنبات عن الجو الخارجى تعد جميعها من وسائل النبات الدفاعية السابقة التكوين (عن Akai 1959).

المقاومة السلبية الكيميائية والفسيولوجية

ترجع المقاومة الكيميائية أو الفسيولوجية السلبية إلى وجود مركبات معينة أو خصائص فسيولوجية معينة فى النبات تكسبه صفة المقاومة، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

رقم pH العصير الخلوى

قد لا يتوفر رقم حموضة (pH) مناسب - فى العصير الخلوى - لنمو المسبب المرضى.

يكون لهذا العامل تأثير كبير فى تكاثر البكتيريا المسببة للأمراض. وقد وجد أن القدرة التنظيمية للاحتفاظ برقم ثابت للـ pH تكون أكبر فى الأصناف القابلة للإصابة منها فى الأصناف المقاومة؛ الأمر الذى يترتب عليه تغيرات كبيرة - نسبيًّا - فى pH العصير الخلوى فى الأصناف المقاومة، مما يجعلها غير مناسبة لنمو البكتيريا (Klement & Goodman 1967).

الضغط الإسموزى للعصير الخلوى

قد يؤثر الضغط الإسموزى للعصير الخلوى فى نمو الكائنات المسببة للأمراض فى حالات معينة. فمثلاً .. وجد أن الضغط الإسموزى كان أعلى فى خلايا الخس المقاومة للبياض الدقيقى مما فى الأصناف القابلة للإصابة.

نفاذية الغشاء البلازمى

وجد فى مرض صدأ الساق فى القمح أن نفاذية الغشاء البلازمى ترتبط عكسيًّا بالمقاومة، وقد عُلّل ذلك بأن زيادة النفاذية تجعل من السهل على الفطر الحصول على المواد الغذائية التى تلزم لنموه (Hare 1966).

نظرية التغذية

قد لا يتوفر الحد الأدنى المناسب من بعض العناصر الغذائية كالأحماض الأمينية، والبروتينات، والمواد الكربوهيدراتية بالقدر الذى يكفى لنمو المسبب المرضى، أو قد لا توجد هذه المواد بحالة صالحة لاستعمال الطفيل. وقد أطلق على هذا الطراز من المقاومة اسم نظرية التغذية Nutritional hypothesis.

وتأييدًا لهذه النظرية .. ذكر أنه أنتجت طفرات من الفطر Colletotrichum orbiculare - بالمعاملة بالأشعة فوق البنفسجية - تميزت عن السلالة الأصلية باحتياجها إلى أحماض أمينية معينة، أو إلى البيرودوكسين Pyrodoxine. ووجد أن الطفرات التى كانت بحاجة إلى أحماض أمينية معينة (هى الـ: leucine، أو isoleucine، أو serine، أو lysine، أو histidine، أو proline، أو alanine، أو valine، أو inositol)، أو إلى مركب البيريميدين pyrimidine لنموها لم تكن قادرة على إصابة بعض أصناف القاوون والبطيخ.

وقد استعادت معظم الطفرات قدرتها على التطفل عندما أضيف الحامض الأمينى اللازم لأى منها إلى سطح الورقة - عند منافذ الإصابة Infection Courts - فى صورة محلول مائى. كذلك استعادت الطفرات قدرتها على التطفل بإضافة مستخلص خلايا بشرة أوراق الخيار أو البطيخ إلى سطح الأوراق المحقونة. إلا أن أيًّا من الطريقتين لم تفلح فى استعادة الطفرة - التى يلزمها البيريميدين - لقدرتها على التطفل (عن Kiraly وآخرين 1974).

ويعد ذلك تأكيدًا لدراسات سابقة مماثلة أجريت على الفطر Ventura inaequalis المسبب لمرض جرب التفاح، وحُصل فيها على عدة طفرات كان ينقص كل منها عامل نمو growth factor معين لا يمكنها تمثيله. وقد كانت هذه الطفرات غير قادرة على إصابة أصناف التفاح القابلة للإصابة، إلا أن معظمها استعاد تلك القدرة لدى إضافة عامل النمو الذى يلزمها عند منفذ الإصابة. وقد تبقت بعض الطفرات التى لم تستجب لتلك المعاملة؛ لأن فقدها للقدرة على التطفل كان راجعًا - كما يبدو - إلى أسباب أخرى إضافية (عن Allen 1959).

وقد أوجز Hare (1966) دور الأحماض الأمينية فى المقاومة فيما يلى:

1 - ربما لا يوفر العائل للطفيل الحد الأدنى المناسب من الحامض الأمينى الضرورى عند منفذ الإصابة، فمثلاً .. وجد تفاوت بين أصناف وسلالات اللفت فى محتواها من الحامض الأمينى هسيتدين histidine، وكان اللفت المنخفض فى محتواه من هذا الحامض مقاومًا لثلاث سلالات من البكتيريا Erwinia مقارنة بسلالات اللفت العادى المحتوى.

2 - قد تمنع مركبات أخرى الطفيل من الحصول على الحامض الأمينى اللازم له. فمثلاً .. وجد أن بعض أصناف اللفت ذات محتوى مرتفع من الهستيدين، ولكنها كانت مقاومة للبكتيريا؛ لأن أحماضًا أمينية أخرى منعتها من الحصول على حاجتها منه.

3 - قد يلزم الطفيل مركبات أخرى لكى يحصل على حاجته من الحامض الأمينى. فمثلاً .. فقدت بعض سلالات البكتيريا Pseudomonas قدرتها على إصابة التبغ لحاجتها إلى الحامض الأمينى تريبتوفان Tryptophan، ولكنها استعادت قدرتها على التطفل عندما أضيفت أحماض أمينية أخرى عند منفذ الإصابة.

عدم إفراز النبات مواد لازمة لتنشيط المسبب المرضى

يحدث هذا التأثير بصورة مباشرة، أو غير مباشرة. ومن أمثلة التأثيرات المباشرة عدم إفراز جذور النباتات المقاومة - لنيماتودا التحوصل Cyst Nematode - لعامل الفقس hatching factor الذى يلزم لفقس الحوصلات Cysts. كما وجد أن لإفرازات الجذور دورًا فى فقس بيض نيماتودا تعقد الجذور .Meloidogyne spp، وتطور يرقات نيماتودا تقرح الجذور .Pratylenchus spp. وجدير بالذكر أن بعض حوصلات نيماتودا التحوصل تفقس حتى فى غياب عامل الفقس، ولكن ذلك يكون فى نطاق ضيق (عن Rhode 1960، و 1972).

أما التأثير غير المباشر للإفرازات فيحدث عندما تتسبب إفرازات الجذور فى نمو وتكاثر كائنات دقيقة معينة فى منطقة نمو الجذور Rhizosphere، ثم تفرز هذه الكائنات بدورها إفرازات قد تحفز أو تثبط نمو الكائنات المسببة للأمراض.

وجود مركبات طبيعية فى النبات تمنع نشاط إنزيمات ضرورية لبقاء الطفيل

ومن أمثلة ذلك مركبات الجليكوبروتينات التى تثبط نشاط الإنزيمات التى يفرزها الطفيل لتحليل المركبات البكتينية.

وجود مركبات فى النبات سامة للمسبب المرضى

وجدت أنواع عديدة من المستخلصات النباتية السامة للفطريات فى 44 نوعًا من مغطاة البذور من بين 1915 نوعًا تمت دراستها، إلا أن ذلك لا يعنى بالضرورة مقاومة تلك الأنواع للفطريات، فلكى يمكن إثبات أن مركباً ما مسئول عن المقاومة لمرض معين، ينبغى توفر الشروط التالية (عن Allen 1959):

1 - أن يكون المركب مرتبطًا بالحماية من المسبب المرضى فى الأنسجة التى تحدث فيها تلك الحماية.

2 - أن توجد المادة فى العوائل المقاومة بتركيزات أعلى مما فى العوائل القابلة للإصابة.

3 - أن يؤدى تزويد العوائل القابلة للإصابة بتلك المادة - فى الموضع المناسب - إلى حمايتها من الإصابة.

4 - أن تكون طبيعة الحماية التى يمكن توفيرها للعوائل القابلة للإصابة - بهذه المادة - مماثلة للحماية الطبيعية التى تحدث فى الأصناف المقاومة.

5 - أن يكون التأثير المثبط للمركب فى السلالات القادرة على إحداث المرض (السلالات الـ Virulent) أعلى بكثير من تأثيره فى السلالات غير القادرة على إحداث المرض (السلالات الـ Avirulent).

وتجدر الإشارة إلى أن تركيز هذه المركبات السامة لمسببات الأمراض قد يزيد أثناء عملية استخلاصها، كما أن تأثيرها على الطفيليات فى البيئات الصناعية لا يماثل بالضرورة تأثيرها فى العائل.

ويمكن غالبًا الحصول على مواد كيميائية سامة للكائنات الدقيقة من كل أنواع النباتات؛ إذ من النادر ألا يمكن التأثير فى أى كائن دقيق - بشدة - بتركيز مناسب لمستخلص نباتى أو مواد يحصل عليها من أى من النباتات المزهرة، إلا أن وجود تلك المواد السامة لا يعنى بالضرورة أنها تحمى النبات من مسبب مرضى معين بالذات.

ويستدل من استعراض الدراسات المبكرة التى أجريت فى هذا الشأن (يراجع لذلك Kosuge 1969) على ارتباط المحتوى الفينولى للنباتات بالمقاومة، ويشترط فى هذه الحالات أن تكون الفينولات ذاتها هى التى تكون مؤثرة فى المسببات المرضية. أما إذا كانت الفينولات تتحول إلى مواد أخرى سامة للمسببات المرضية بعد حدوث الإصابة، فإن ذلك يدخل ضمن المقاومة ذات الطبيعة النشطة.

ومن حالات المقاومة التى ترجع إلى وجود مركبات سامة للمسببات المرضية - فى الأصناف المقاومة - قبل حدوث الإصابة ما يلى:

1 - مقاومة البصل لمرض الاسوداد أو التهبب:

ترجع مقاومة البصل لهذا المرض إلى احتواء الحراشيف الخارجية للأبصال الملونة (المقاومة) على مركبين هما: الكاتيكول Catechol، وحامض بروتوكاتيكوك Protocatechuic Acid. ينتشر المركبان فى المحلول الأرضى حول الأبصال، مما يؤدى إلى منع إنبات ونمو جراثيم الفطر.

وقد وجد أن مقاومة الأبصال الملونة للفطر تفقد لدى إزالة الحراشيف الخارجية الميتة بالرغم من استمرار وجود أوراق ملونة داخلية فى البصلة. وأوضحت الدراسات التى أجريت فى هذا الشأن أن الصبغات الفلافونية flavones والأنثوسيانينية anthocyanins ليس لها أى دور مثبط للفطر، ولكن تمثيلها يرتبط بتمثيل المركبات الفينولية المسئولة عن المقاومة.

2 - إفراز جذور أصناف البسلة المقاومة للفطر فيوزاريم - المسبب للاصفرار - لمواد سامة للفطر.

3 - إفراز أوراق البنجر السليمة - من الأصناف المقاومة للفطر Cercospora beticola المسبب لمرض تبقع الأوراق السركسبورى - لمواد مثبطة لجراثيم الفطر. وقد وجد ارتباط بين إفراز تلك المواد وعدد البقع المرضية المحلية على الأوراق. وتبين أن أعدادًا قليلة فقط من جراثيم الفطر هى التى تنبت على أوراق الأصناف المقاومة، وأن نسبة بسيطة فقط من الجراثيم هى التى يمكنها الإنبات فى قطرات الندى، أو الماء الذى تغسل به الأوراق، حتى بعد التخفيف الشديد لها.

4 - كذلك وجد أن أسطح أوراق أصناف التفاح المقاومة للبياض الدقيقى تحتوى على مواد مثبطة لإنبات جراثيم الفطر المسبب للمرض، وأن هذه المواد تؤدى إلى حماية الأصناف القابلة للإصابة من المرض لدى معاملة أوراقها بها.

5 - ترتبط مقاومة البطاطس للفطر Streptomyces scabies - المسبب لمرض الجرب - بمحتوى الدرنات من حامض الكلوروجنك Chlorogenic Acid كما يلى:

أ - توجد تركيزات من الحامض فى الأصناف المقاومة أعلى مما فى الأصناف القابلة للإصابة.

ب - يزداد تركيز الحامض فى الأنسجة الخارجية للدرنات - حيث ينمو وينتشر الفطر عند حدوث الإصابة - عما فى الأنسجة الداخلية.

جـ - يكون تركيز الحامض أعلى فى الأنسجة المحيطة بالعديسات - التى تشكل المنفذ الطبيعى للإصابة - مما فى بقية أنسجة القشرة.

د - يلعب الحامض دورًا فى تنبيه الكامبيوم الفلينى لتكوين طبقة فلينية حامية (عن Allen 1959).

6 - تبين أن مادة التوماتين **Tomatine** بتركيز 450 جزءًا فى المليون تثبط نمو البكتيريا **Pseudomonas solanacearum** فى المزارع البكتيرية. وتوجد هذه المادة فى جذور صنف الطماطم **Hawaii 5808-2** المقاوم للبكتيريا - بتركيز 400 جزء فى المليون، ويصل التركيز فى النباتات الكبيرة إلى أكثر من 1000 جزء فى المليون، أما الأصناف القابلة للإصابة فيتراوح تركيز التوماتين فى جذورها من 100-300 جزء فى المليون. كما وجد أن الظروف البيئية التى تضعف المقاومة تؤدى كذلك إلى خفض تركيز التوماتين فى الجذور. ويستدل مما تقدم على وجود ارتباط بين محتوى جذور الطماطم من التوماتين ومقاومتها لهذه البكتيريا (Gilbert & Mohanakumaran 1969).

7 - ترتبط المقاومة للذبول الفيوزارى فى البطيخ بوجود مستوى مرتفع من الفينولات قبل العدوى بالفطر (Mohammed وآخرون 1981).

8 - يحتوى العصير المستخلص من جذور عدد من النباتات على مواد سامة للنيماتودا، إلا أنه لم يثبت فى أى منها أن هذه المواد هى المسبب الرئيسى والوحيد للمقاومة. وغالبًا ما تعمل هذه المواد - مع عوامل أخرى - على خفض معدلات الإصابة بالنيماتودا، نظرًا لأن تلك المواد تبطئ فقط نمو وتطور النيماتودا بالنبات. ومن أمثلة ذلك مقاومة الأسبرجس للنيماتودا **Trichodorus christiei**، حيث تحتوى جذور وسيقان الأصناف المقاومة على جلوكوسيد سام للنيماتودا، يؤدى إلى سرعة موتها فى منطقة نمو الجذور. وينتشر هذا المركب السام فى التربة كذلك حول النباتات؛ ليحمى النباتات الأخرى القابلة للإصابة القريبة منه من الإصابة بالنيماتودا (عن **Rhode 1972**).

ونظرًا لأهمية موضوع المركبات السامة السابقة التكوين كمكون أساسى للمقاومة السلبية، وارتباطه بموضوع مركبات الأيض الثانوية **secondary metabolites** التى تتنوع فئاتها ومجموعاتها كثيراً (**Hallahan** وآخرون **1992**)، فإننا نتناول هذا الموضوع بمزيد من التفصيل تحت عنوان مستقل.

المقاومة السلبية .. وجود مركبات سامة سابقة التكوين

يمكن باستعمال المذيبات المناسبة استخلاص عديد من المركبات ذات النشاط المضاد للميكروبات من كثير من النباتات، كذلك يمكن فصل مركبات لها تأثيرات ضارة على الحشرات سواء أكانت ناقلة للفيروسات، أم غير ناقلة لها، ويتطلب الأمر تحديد التركيب الكيميائى لتلك المركبات قبل دراسة دورها فى عملية دفاع النباتات ضد الإصابات المرضية.

وكما أسلفنا .. يعتبر الارتباط بين المقاومة وتواجد تلك المركبات بتركيزات عالية فى النباتات المقاومة أو فى الأنسجة المقاومة التى تتعرض للإصابة هو المحدد الرئيسى للفصل فى أهمية هذه المركبات فى إضفاء صفة المقاومة. وكلما ازدادت عدد التراكيب الوراثية المقاومة التى تتواجد فيها تلك المركبات بتركيزات عالية كلما ازدادت الثقة فيها كعوامل مسببة للمقاومة .. إلا أنه لا يمكن الاعتماد بأى حال على دراسات تتضمن - فقط - صنفاً واحدًا مقاومًا أو صنفين، مقارنة بصنف واحد قابل للإصابة أو صنفين. وطبيعى أن الثقة تزداد فى مسئولية تلك المركبات عن المقاومة إذا ارتبطت شدة المقاومة طرديًّا بتركيز تلك المركبات، سواء أكان ذلك فى تراكيب وراثية مختلفة، أم فى أنسجة مختلفة من التركيب الوراثى الواحد، أم عند تباين التركيز فى نباتات مختلفة من تركيب وراثى واحد لدى تعرضها لظروف بيئية متباينة قبل عدواها بالمسبب المرضى.

إن المشكلة يمكن - كذلك - الاقتراب منها من زاوية المسبب المرضى؛ فهل السلالات الأكثر تحملاً للمركبات المضادة للكائنات الدقيقة هى الأخرى أكثر ضراوة. ومرة أخرى فإن القرائن - لكى تكون قوية - يجب أن تعتمد على نتائج دراسات تجرى على عديد من السلالات وليس على سلالتين فقط أو ثلاث. وقد يرجع تحمل السلالات لمضادات الكائنات الدقيقة إلى عدم حساسيتها لها ابتداء، أو إلى قدرتها على تحويل تلك المركبات إلى أخرى غير سامة.

ونعرض - فيما يلى - لأهم فئات المركبات السامة السابقة التكوين.

أولاً: الفينولات

أنواع الفينولات فى النباتات ومسارات تمثيلها

تتضمن الفينولات phenols مدى واسعًا من المركبات التى تحتوى على حلقة عطرية تحمل بديلاً لمجموعة أيدروكسيل يعطى المركب فاعليته.

وتتضمن هذه المركبات كلاً مما يلى:

الفلافونات flavonoids	الكينونات الفينولية phenolic quinones.
اللجنانات lignans	الزانثونات xanthones.
الدبسيدونات depsidones	اللجنينات lignins.
الميلانينات melanins	التانينات tannins.
الجلوكوسيدات glycosides	مشتقات الكيومارين cumarin derivatives.

الإسترات السكرية للأحماض الفينولية sugar esters of phenolic acids.

إسترات أحماض الأيدروكسى سِنّامك esters of hydroxycinnamic acids.

ولقد أمكن التعرف على ما لا يقل عن 14 مجموعة من الفينولات النباتية (جدول 7-2).

وأكثر الفينولات تواجدًا فى الأنسجة النباتية، ما يلى:

Coumarin

umbelliferone

scopoletin

para-hydroxycinnamic acid

chlorogenic acid

syringic acid

synapic acid

وتقسم - كذلك تلك الفينولات تبعًا لمجموعة الأيدروكسيل فى حلقة البنزين، كما يلى:

Monohydric phenol - phenol

o-Dihydroxy phenol - pyrocatechol

p-Dihydroxy phenol - quinol

m-Dihydroxy phenol - resorcinol

Trihydroxy phenol - phloroglucinol and pyrogallol

Monohydroxy phenolic acid - p-salicylic acid and coumaric acids

Dihydroxy phenolic acid - protocatechuic acid, caffeic acid, and chlorogenic acid.

Dihydroxy phenolic acid with one of the OH groups substituted by a methoxyl group - vanillic acid and ferulic acid.

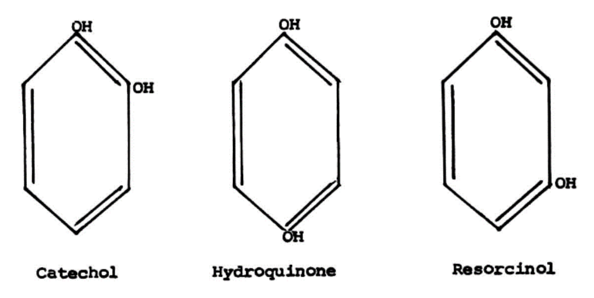
ويبين شكل (7-1): التركيب الكيميائى البنائى لست مجموعات من الفينولات، أما شكل (7-2) فيوضح مسارات تمثيل الفينولات (عن Vidhyasekaran 1988).

جدول (7-2): مجموعات الفينولات النباتية التى أمكن التعرف عليها (عن Vidhyasekaran 1988).

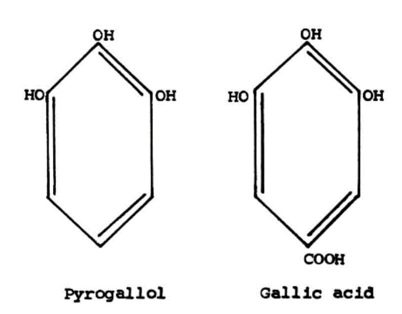
المجموعة	النوعية	أمثلة
C6	**Simple phenols**	**phenol, catechol, hydroxyquinone, phloroglucinol, and pyrogallol**
C6-C1	**Phenolic acids**	**p-hydroxybenzoic, protocatechuic, vanillic, gallic, syringic, salicylic, o-pyrocatechuic, and gentisic acids**
C6-C3	**Cinnamic acids and related compounds**	**α-coumaric, cinnamic, caffeic, ferulic, and sinapic acids**
C6-C2	**Acetophenones and phenylacetic acids**	**2-hydroxyphenylacetic acid, 4-hydroxyphenylacetic acid, 2-hydroxyacetophenones, and 4-hydroxyacetophenones**

umbelliferone, coumarin, bergeninm, hydrangenol, engranin, fraxetin, isofrxetin, furochromones, and daphnetin	**Coumarins, isocoumarins, and chromones**	**C6-C3**
apigenin, luteolin, and tricin	**Flavones**	**C15**
pinocembrin, naringenin, eriodictyol, and strobopinin	**Flavonones**	**C15**
genistein, daidzein, orobol, ferreirin, and equol	**Isoflavones and isoflavonoids**	**C15**
kaempferol, quercetin, quercetagetin, myricetin, isorhamnetin, and gossypetin	**Flavonols, dihydroflavonols, and related compounds**	**C15**
pelargonidin, cyanidin, peonidin, petunidin, and malvidin	**Anthocyanidins**	**C15**
chalcones, aurones, and dehydrochalcones butein, sulfuretin, and leptosidin		**C15**

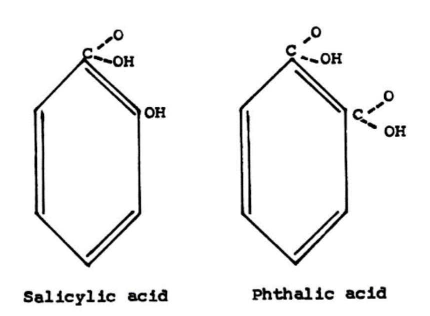
amentoflavone, karyoflavone, and isoginkgetin	Biflavonyls	C30
dimethoxybenzoquinone, naphthoquinones, and anthroquinones	Quinones	C6, C10, and C14
betanidin	Betacyanins	C18



Isomeric dihyroxybenzenes.

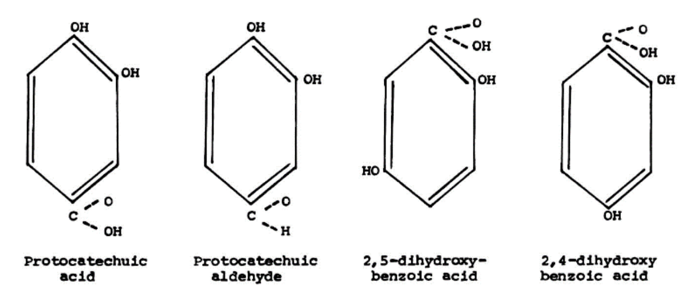


Pyrogallol and gallic acids.

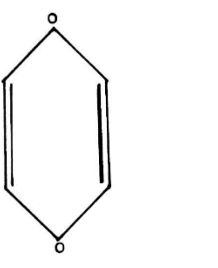


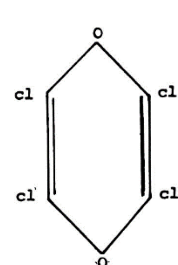
Salicylic and phthalic acids.

شكل (7-1): التركيب الكيميائى البنائى لست مجموعات من الفينولات.



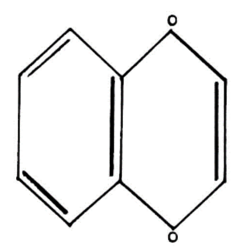
Trisubstituted benzene derivatives.

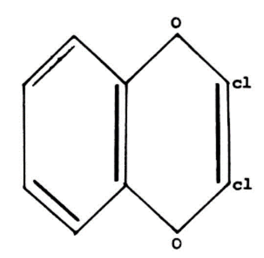




p-benzoquinone   M-tetrachlo p-benzoquinone

Quinones.

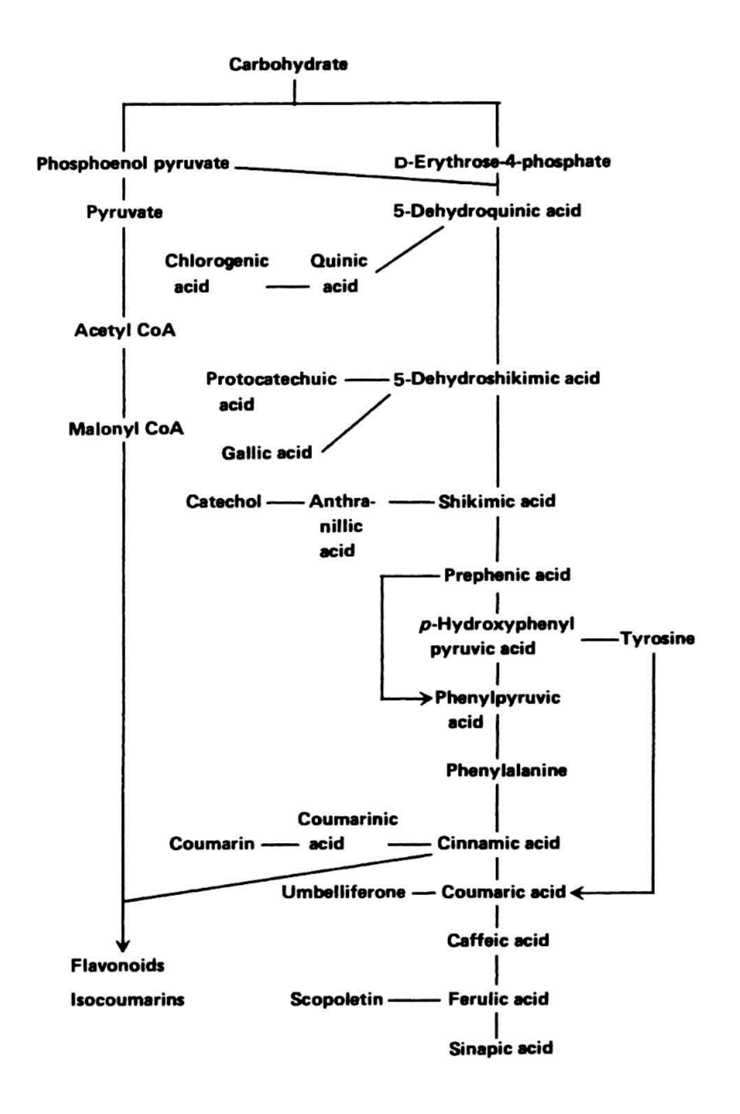




Naphthoquinone   M-2,3-dichloro-1,4-naphthoquinone

Naphthoquinones.

تابع شكل (1-7).



شكل (7-2): مسارات تمثيل الفينولات فى النباتات.

سمية الفينولات لمسببات الأمراض

تُعد الفينولات من المركبات التى تعرف بسميتها للفطريات، وبكونها من مضادات البكتيريا، كما تُثبط الفينولات المؤكسدة نشاط لفيروسات. وتتباين مختلف الفينولات فى مدى سميتها بصورة عامة، وكذلك فى طبيعة سميتها للعمليات الحيوية، وفى مدى اتساع مدى تلك التأثيرات.

ومن أهم العمليات الحيوية التى تؤثر فيها المركبات الفينولية، ما يلى:

1 - تثبيط ومنع إنبات الجراثيم؛ فمثلاً .. يثبط كلا من: الـ protocatechuic acid، و الـ catechol إنبات جراثيم الفطر Colletotrichum circinans، كذلك تُثبط كلا من الأحماض الفينولية: caffeic، و para-coumaric، و ferulic، و chlorogenic، و vanilic إنبات جراثيم الفطر Diplodia zeae.

2 - تثبيط ومنع نمو الغزل الفطرى؛ فمثلاً .. تؤثر مختلف الفينولات على نمو الفطر Gloeosporium ampelophagum على النحو التالى:

مجموعة الفينولات	الفينول عند تركيز 1000 جزء فى المليون	نمو الغزل الفطرى (مجم)
Monophenol	Phenol	731
	p-Salicylic acid	826
	p-Coumaric acid	753
	Tyrosine	829
o-Dihydroxy phenol	Catechol	62
	Chlorogenic acid	86
	Caffeic acid	43
	Phenylalanine	187

m-Dihydroxy phenol	Resorcinol	205
p-Dihydroxy phenol	Hydroxyquinone	193
Trihydroxy phenol	Pyrogallol	339
	Phloroglucinol	376
	Gallic acid	298
الكنترول (جلوكوز)		858

3 - تثبيط ومنع إنتاج الإنزيمات الفطرية؛ فمثلاً .. تؤدى زيادة تركيز الكاتيكول catechol على نشاط إنزيمى الـ exopolygalacturnonase، والـ polygalacturonate trans-eliminase اللذان ينتجهما الفطر Helminthosporium oryzae على النحو التالى:

تركيز الكاتيكول (ميكروجرام/مل)	نشاط الـ exopoly-galacturnonase (وِحدة)	نشاط الـ polygalacturonate trans-eliminase (وِحدة)
صفر	165	200
100	90	150
500	70	125
1000	50	95
2000	45	75
3000	30	60

4 - تثبيط ومنع نشاط الإنزيمات التى تنتجها المسببات المرضية؛ فمثلاً .. تثبط مختلف الفينولات نشاط إنزيمى: الـ polygalacturonase، والـ cellulose اللذان يفرزهما الفطر Rhizoctonia solani على النحو التالى:

المركب الفينولى	تثبيط نشاط الـ polygalacturonase (%)	تثبيط نشاط الـ cellulose (%)
Phenol	صفر	صفر
Catechol	صفر	صفر
Pyrogallol	12	صفر
Callic acid	صفر	صفر
Digallic acid	88	100
Benzoquinone	46	27
Anthroquinone	8	صفر

كذلك تؤثر الأنواع المختلفة من الفينولات على ستة من الإنزيمات التى يفرزها الفطر Helminthosporium nodulosum بدرجات متباينة، كما يلى:

الفينول	نشاط الإنزيمات(أ) (وحدات)					
	Exo-PG	PTE	Endo-PG	PGTE	C1	Cx
Catechol	صفر	صفر	49.8	90.0	42.1	43.9
Resorcinol	10	صفر	48.3	87.5	43.0	43.3
Pyrogallol	5	صفر	50.1	85.0	42.6	42.4
الكنترول	78	5.5	50.2	87.5	43.0	43.8

أ - الإنزيمات هى:

Exo-Pg = exopolygalaturonase

PTE = pectin trans-eliminase

Endo-Pg = endopolygalacturonase

PGTE = polygalacturonase trans-eliminase

C1 & Cx = cellulases

5 - تثبيط ومنع إنتاج المسببات المرضية لسمومها؛ فمثلاً .. يمنع الـ Catechol الفطر Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici من إحداثه لأعراض الذبول فى الطماطم، على الرغم من عدم تأثيره على نمو الفطر أو إنبات جراثيمه فى البيئات الصناعية عند إضافته إليها بتركيزات تصل إلى 500 جزء فى المليون. وقد أدت زيادة تركيز catechol فى البيئات الصناعية لفطر الذبول الفيوزارى إلى إضعاف قدرة راشح تلك المزارع على إحداث أعراض الذبول - تدريجيًّا - مع زيادة تركيز الـ catechol، ولكن مع تأثير معنوى كبير عند تركيز 500 جزء فى المليون، كما يلى.

تركيز الكاتيكول Catechol (جزء فى المليون)	نباتات الطماطم المصابة (%)	نباتات الباذنجان المصابة (%)
صفر	69.0	54.0
10	63.9	47
50	47.0	30.0
100	48.9	32.0
500	14.0	18.0

6 - إفقاد السموم - التى تفرزها المسببات المرضية - لسميتها (عن Vidhyasekaran 1988).

دور الفينولات فى مقاومة الأمراض

إن المقاومة قد ترجع إلى فينولات سابقة التكوين (وهو ما نتناوله بالشرح تحت العنوان الحالى)، أو إلى فينولات ينشط تكوينها فى النباتات بعد تعرضها للإصابة، أو إلى صورة مؤكسدة للفينولات تتكون نتيجة للتعرض للإصابة (وهو ما نتناوله بالدراسة فى موضع لاحق).

ومن أبرز الأمثلة على الدور الذى تلعبه الفينولات فى مقاومة الأمراض، ما يلى:

- **تلعب الفينولات الكلية والفينولات الفردية دوراً هامًّا فى مقاومة عديد من الأمراض. ومن الأمثلة على ذلك أن ثمار الطماطم الصغيرة الخضراء تقاوم الإصابة بالفطر Botrytis cinerea، حيث لا يُحدِث فيها سوى بقعًا صغيرة لا تزيد فى المساحة أثناء نمو الثمار ونضجها. ومن المعروف أن الثمار الخضراء الصغيرة تحتوى على الجليكوألكالويد: توماتين tomatine بتركيزات عالية، وخاصة فى الطبقات الخارجية من الجلد، وهى تركيزات تكفى لمنع نمو الفطر فى البيئات الصناعية. ينخفض تركيز التاوماتين أثناء نضج الثمار إلى أن يصبح شبه معدوم فى الثمار الناضجة. ولذا .. يُعتقد بأن وقف نمو الفطر فى الثمار الخضراء الصغيرة يحدث بفعل التوماتين. هذا .. وبالإضافة إلى التوماتين السابق التكوين فى جلد الثمار الخضراء، فإن تركيز الفينولات الكلية يزداد - تدريجيًّا - لدى تعرض الثمار للإصابة، كما يلى:**

الفترة بعد الحقن	الفينولات الكلية فى جلد الثمرة
بالفطر (ساعة)	الطماطم (ميكروجرام/جم وزن طازج)
24	108
48	143
72	247
96	281

- كذلك تعد الـ o-idihydroxy phenolics (شكلا 7-3، 7-4) (مثل الـ catechol والـ protocatechuic acid، والـ chlorogenic acid، والـ caffeic acid) شديدة السمية للفطريات، وتلعب دورًا هامًّا فى المقاومة لعديد من الأمراض فى النباتات، كما فى مقاومة البطاطس للجرب، وكذلك مقاومة العنب للفطر Gloeosporium ampelophagam التى تبين فيها ارتباط المقاومة مع كل من الفينولات الكلية والـ o-dihydroxy phenolics، كما يلى:

الصنف	عمر الورقة	القابلية للإصابة	الفينولات الكلية (ميكروجرام/جم وزن طازج)	الـ o-dihydroxy phenloics (ميكروجرام/جم وزن طازج)
Anab-e-Shahi	حديثة	تصاب بشدة	240	105
	متوسطة	متوسطة القابلية للإصابة	235	110

	مسنة	مقاومة	215	160
Bangalore Blue	حديثة	مقاومة	230	160
	متوسطة	مقاومة	205	160
	مسنة	مقاومة	200	165

HOOC OH OH OH OH

Catechol Protocatechuic acid

شكل (7-3): التركيب الكيميائى البنائى لكل من الكاتيكول Catechol وحامض البروتوكاتيكوِّك protocatechuic acid.

CH=CH—CO·O HO OH HO CO OH OH

شكل (7-4): التركيب الكيميائى البنائى لحامض الكلوروجنك chlorogenic acid (عن Oku 1994).

● يعرف منذ عام 1929 أن الحراشيف الخارجية الجافة لأبصال البصل الملونة بالأحمر أو بالأصفر تحتوى على تركيزات عالية من الـ protocatechuic acid (وهو: 3,4-dihydroxybenzoic acid)، والـ catechol (وهو: 3,4-dihydroxybenzene)، علمًا بأن كليهما يعد شديد السمية للفطر Colletotrichum circinans (مسبب مرض الاسوداد أو التهبب smudge)، وهما ينتشران من خلايا القشرة الخارجية الميتة إلى الماء الأرضى المحيط بالأبصال؛ مما يؤدى إلى منع إنبات جراثيم الفطر ونمو هيفاته. وقد أوضحت إحدى الدراسات أن إنبات جراثيم الفطر كان أقل من 2% فقط فى مستخلص للحراشيف الخارجية الملونة، بينما بلغ أكثر من 90% فى مستخلص للحراشيف الخارجية لأصناف البصل البيضاء التى تعد شديدة القابلية للإصابة بالمرض. وقد ازدادت الثقة فى مسئولية هذين المركبين عن المقاومة عندما وجد أن الظروف البيئية التى تخفض إنتاجهما فى الحراشيف (مثل عدم تغطية الأبصال بالتربة أو فقد الحراشيف لهما بالغسيل بالماء) تؤدى إلى زيادة القابلية للإصابة.

● وفى البطاطس تعد الجذور الصغيرة شديدة المقاومة للفطر Verticillum albo-atrtum، وتضعف المقاومة كلما تقدمت الجذور (والنباتات) فى العمر. ويعد حامض الكلوروجنك chlorgenic acid هو الفينول الرئيسى فى جذور البطاطس. وقد أوضحت إحدى الدراسات أنه عند عمر 5 أسابيع احتوت جذور الأصناف المقاومة على نحو خمسة أضعاف جذور الأصناف القابلة للإصابة من حامض الكلوروجنك، كما انخفض محتوى الجذور من الفينول - فى كل من الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة - كلما تقدمت فى العمر.

وتتضح تلك العلاقة بين مستوى مقاومة أصناف البطاطس لذبول فيرتسيليم ومحتوى جذورها من حامض الكلوروجنك، كما يلى:

الصنف	المقاومة لذبول فيرتسيليم	محتوى حامض الكلوروجنك (%)
Popular	**مقاوم بدرجة عالية جدًّا**	**0.08**
U1956	**مقاوم بدرجة عالية**	**0.07**
Great Scott	**مقاوم**	**0.11**
Early Gem	**قابل للإصابة**	**0.01**
Kennebec	**قابل للإصابة**	**0.05**
Russet Burbank	**قابل للإصابة**	**0.01**
Bliss Triumph	**قابل للإصابة بدرجة عالية**	**0.03**

- **تحتوى جذور البطاطا المقاومة التى تُعدى بالفطر Ceratocystis fimbriata على تركيزات من الـ umbelliferone والـ scopoletin أعلى مما فى الجذور القابلة للإصابة التى تُصاب بالفطر.**

- **ترتبط مقاومة الشوفان للفطر Ophiobolus graminis بوجود تركيزات عالية من الـ avenacin (شكل 7-5) فى جذوره، وهو الفينول الذى لا يتواجد فى جذور الحبوب الصغيرة الأخرى، وهى التى تُصاب بالفطر.**

شكل (7-5): التركيب الكيميائى البنائى للأفيناسين avenacin.

● تحتوى الطماطم على الجليكوألاكالويد: توماتين tomatine (شكل 7-6)، والذى يعرف الأجليكون فيه باسم: توماتيدين tomatidine، وهو الذى يوجد فى الجذور، والسيقان، والأوراق ويعد شديد السمية للفطريات، كما وجدت علاقة بين محتوى الطماطم من التوماتين ومقاومتها للذبول الفيوزارى.

شكل (7-6): التركيب الكيميائى البنائى للتوماتين tomatine.

ومن بين أمثلة عدم الحساسية للتوماتين: عدم حساسية الأغشية الخلوية لبعض طفرات من الفطر Fusarium solani لهذا المركب؛ الأمر الذى تبين أنه كان راجعًا إلى انخفاض محتوى أغشية تلك الطفرة من الاستيرول sterol مقارنة بالسلالة غير الطفرية. وقد كانت تلك الطفرات قادرة على إصابة الثمار الخضراء - فقط - وهى التى تحتوى على تركيزات عالية من التوماتين.

ولقد دُرِسَ دور التوماتين فى مقاومة الطماطم للفطر Verticillium albo-atrum وتبين أن الفطر ينتج الإنزيم β-1,2-glucosidase الذى يفصل واحدة من وحدات الجلوكوز الأربع من التوماتين؛ ليعطى β2-tomatine، وهو مركب لا يكون معقدات مع الاستيرولات (شكل 7-7) (عن Strange 1993).

وتتباين الفطريات فى مدى حساسيتها للترماتين، كما يلى:

الفطر	الحد الأدنى لتركيز التوماتين المولارى الـــذى يقضى تمامًا على الفـــطـــر
الفطريات الممرضة للطماطم	
Septoria lycopersici	**0.85**
Alternaria tomato	**0.79**
Phytophthora infestans	**0.16**
Fusrium oxysporum f. sp. lycopersici	**0.10**
A. solani	**0.063**
Verticillium albo-atrum	**0.010**
الفطريات غير الممرضة للطماطم	
Cercospora beticola	**0.0020**
Fusarium oxysporum f. sp. conglutinans	**0.0020**
Alternaria tenuis	**0.0010**
Septoria linicola	**0.00040**
S. lactucae	**0.00040**
Helminthosporium turcicum	**0.00013**

شكل (7-7): مركب (a) = α-tomatine الذى يتحول بفعل إنزيمات يفرزها الفطر Verticillium alb-atrum إلى المركب (b) = β2-tomatine الضعيف السمية للفطر (عن Strange 1993).

هذا .. ويزداد مستوى التوماتين فى الجذور والنموات الخضرية لأصناف الطماطم المقاومة - عقب تعرضها للعدوى - إلى الضعف فى خلال 10-14 يومًا، بينما يبقى المستوى فى الأصناف القابلة للإصابة ثابتًا أو يقل بعد التعرض للإصابة.

● تقاوم بادرات القطن الفطر Rhizoctonia solani بعد نحو 14 يوماً من الزراعة - وليس قبل ذلك - بسبب ارتفاع محتوى السويقة الجينينة السفلى للقطن - حينئذٍ - من الفينول: catechin الذى يعد مثبطًا لنمو الفطر (عن Vidhyasekaran 1988).

ثانيًا: المركبات الأليفاتية ذات السلاسل الطويلة

تُحدث بعض عزلات الفطر **Alternaria alternata** مرض البقع السوداء فى ثمار المانجو، إلاّ أن الفطر يبقى كامنًا إلى أن تصبح الثمرة ناضجة. وقد أُعزِى سبب هذا الكمون إلى ما يوجد بجلد الثمار غير الناضجة من مركبات مضادة للكائنات الدقية، وقد عزل منها مركبان، هما:

5-(12-cis-heptadecenyl) resorcinol

5-pentadecyl resorcinol

وقد وجد أن تركيز هذين المركبين ينخفض بشدة بعد النضج (شكل 7-8).

(a) HO, OH, $(CH_2)_{11}-CH=CH-(CH_2)_3-Me$ (b) HO, OH, $(CH_2)_{14}Me$

شكل (7-8): مركبا الـ resorcinol المسئولين عن مقاومة ثمار المانجو غير الناضجة للفطر Alternaria alternata، وهما:

(a) 5-(12-cis-heptadecenyl) resorcinol

(b) 5-pentadecyl resorcinol

عزل - كذلك - ألدهيدين ذات سلاسل طويلة - هما: α-triticene، و β-triticine من القمح (شكل 7-9)، كان لهما تأثيرات مضادة للفطريات التى تصيب القمح بتركيزات تراوحت - فى البيئات الصناعية - بين 10، و 100 ميكروجرامًا/مل، إلاّ أن دورهما فى المقاومة لم يُدرس.

شكل (7-9): الألدهيدان (a) = α-triticine، و (b) = β-triticine.

يعد الأنثراكنوز الذى يسببه الفطر Colletotrichum gloeosporioides من أخطر أمراض الأفوكادو، حيث تُصاب الثمار بالعفن. وعلى الرغم من إصابة الفطر للثمار فى مرحلة مبكرة جدًّا من تكوينها، فإنه يبقى ساكنًا إلى ما بعد الحصاد بنحو 7-15 يومًا. ولقد وجد أن جلد الثمار غير الناضجة يحتوى على المركب:cis, cis-1-acetoxy-2-hydroxy-4-oxoheneicosa-12,15-diene (شكل 7-10).

وقد تبين أن جراثيم الفطر يتوقف إنباتها عند تركيز 790 ميكروجرامًا/مل، بينما كان تركيزه فى جلد الثمار غير الناضجة 1600 ميكروجرام/مل (1200 ميكروجرام/جم وزن طازج من القشرة) وانخفض تركيز المركب أثناء النضج إلى أن وصل إلى 120 ميكروجرام/جرام من قشرة الثمرة عند اكتمال النضج. كذلك وجد لدى مقارنة صنفين من الأفوكادو يختلفان فى توقيت انخفاض تركيز الـ diene فيهما توافقاً ما بين هذا التوقيت وبداية ظهور أعراض الإصابة المرضية

$$CH_3-(CH_2)_4-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-CH_2-\overset{H}{C}=\overset{H}{C}-(CH_2)_7-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-\overset{OH}{CH}-CH_2-O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$$

شكل (10-7): المركب cis,cis-12-acetoxy-2-hydroxy-4-oxo-heneicosa-12,15-diene الذى عزل من جلد ثمار الأفوكادو بتركيزات عالية قبل نضج الثمار.

ولقد تبين أن الانخفاض السريع فى تركيز الـ diene عند نضج ثمار الأفوكادو كان مصاحباً بزيادة فى نشاط إنزيم الـ lipoxyenese، وعندما عوملت الثمار بالمركب α-tocopherol - وهو مثبط للـ lipoxygenese - تأخر الانخفاض فى تركيز الـ diene وتأخرت معه بداية الإصابة بالفطر. وبمتابعة دراسة هذا الأمر تبين احتواء قشرة ثمار الأفوكادو على مثبط طبيعى للـ lipoxygenase، وهو: الـ epicatechin. كان تركيز هذا المركب 514 ميكروجرام/جم وزن طازج من قشرة الثمار الناضجة، ولكنه انخفض فى الثمار الناضجة - وقبل ظهور أعراض الإصابة - إلى 8 ميكروجرام/جم وزن طازج. وعندما قورن صنفين يختلفان فى شدة قابليتهما للإصابة، تبين أن الـ epicatechin ينخفض بسرعة أكبر فى الصنف الذى تظهر عليه الأعراض أولاً.

ثالثًا: اللاكتونات غير المشبعة

توجد اللاكتونات غير المشبعة unsaturated lactones فى النباتات - عادة - على صورة جلوكوسيدات. فمثلاً .. توجد الـ tuliposides فى التيولب وبتركيزات عالية - خاصة - فى متاع الزهرة. وتلعب تلك المركبات دوراً دفاعيًّا ضد الإصابة ببعض الفطريات، مثل: Fusarium oxysporum f. sp. tulipae، و Botrytis tulipae، و Botrytis cinerae.

وعلى الرغم من تواجد الفطر الأول فى التربة فى محيط النبات طول العام فإن النبات لا يكون قابلاً للإصابة إلا خلال الفترة التى تسبق الحصاد بأسابيع قليلة فقط، ثم يصبح أقل تعرضاً للإصابة بعد الحصاد. ونجد خلال تلك الفترة التى تسبق الحصاد أن الأوراق الخارجية البيضاء الغنية بالـ tuliposide تصبح بنية اللون وينخفض فيها تركيز تلك المركبات بشدة. أما بعد الحصاد .. فإن الأوراق التى تلى الحراشيف البنية - والتى يكون فيها تركيز الـ tuliposides منخفضاً - يزداد فيها التركيز بصورة كبيرة بعد أيام قليلة من التخزين. وبذا .. تتوافق فترة القابلية للإصابة مع الفترة التى ينخفض فيها تركيز الـ tuliposides.

إن الفطر B. cinerea لا يصيب التيولب - عادة - تحت ظروف الحقل، إلا أن إصابته ممكنة مع العدوى الصناعية والرطوبة النسبية العالية فى المخازن. هذا .. إلاّ أن أمتعة أزهار النباتات التى تحتوى على تركيزات عالية من الـ tuliposides لا تصاب بهذا الفطر أبدًا.

وبالمقارنة .. فإن الفطر B. tulipae يمكنه إصابة جميع أجزاء النبات، بينما يُحدث B. cinerae أضرارًا شديدة بالأغشية الخلوية؛ مما يؤدى إلى تسرب الـ tuliposides - التى تتواجد فى الفجوات العصارية - إلى السيتوبلازم، حيث تتحول إنزيميًّا إلى لاكتونات نشطة (شكل 7-11). هذا بينما نجد أن B. tulipae أقل إضرارًا بالأغشية الخلوية ويجرد الـ tuliposides من سميتها بتحويلها إلى الأحماض الأيدروكسى كربوكسيلية المقابلة لها، وهى التى تكون - فعليًّا - محفزة لنمو الفطر.

رابعًا: الجلوكوسيدات السيانوجينية

تحتوى عديد من النباتات على جلوكوسيدات سيانوجينية cyanogenic glucosides؛ فمثلاً .. قد يشكل الـ dhurrin (شكل 7-12) حتى 35% من الوزن الجاف لبعض الأعضاء فى السورجم. وعند تواجد هذا المركب فإن الـ HCN ينطلق عقب الإصابة أو الضرر. وتقوم بعض الفطريات التى تتجنب أضرار الـ HCN عليها بإنتاجها للإنزيم formamide hydro-lyase، الذى يحول الـ HCN إلى HCONH2، كما أن تلك الفئة من النباتات يكون مسار التنفس فيها أقل حساسية للسيانيد (عن Strange 1993).

Tuliposide A

Tuliposide B

α-methylene-γ-hydroxybutyric acid

α-methylene-β, γ-dihydroxybutyric acid

α-methylene-γ-butyrolactone

β-hydroxy-α-methylene-γ-butyrolactone

شكل (7-11): المركبان Tuliposide A، و Tuliposide B اللذان يلعبان دورًا فى مقاومة النيتولب لعدة فطريات.

شكل (7-12): الـ Dhurrin من السورجم.

ومن المعروف أن نواتج تحلل الجلوكلوسينولات glucosinolates (التى يكثر تواجدها فى النباتات التابعة للعائلة الصليبية) تثبط نمو الكائنات الدقيقة. ومن المعروف - كذلك - أن أصناف البروكولى تتباين فى مدى قابليتها للإصابة بالبكتيريا المسببة للعفن الطرى البكتيرى (Pseudomonas marginalis). ولقد أوضحت دراسات Charron وآخرون (2002) تباين محتوى زهيرات ثمانى أصناف من البروكولى (الجزء الذى يزرع من أجله المحصول) فى الجلوكوسينولات الكلية بين 0.5، و 29.8 ميكرومول لكل جرام (umol g-1)، وكذلك وجود تباين مماثل فى مدى قدرتها على تثبيط نمو البكتيريا P. marginalis، وكانت 48% من الاختلافات فى القدرة على تثبيط نمو البكتيريا ترتبط باختلاف زهيرات الأصناف فى محتواها من الجلوكوسينولات الكلية؛ مما يمكن معه الاستفادة من ذلك المحتوى كدليل على المقاومة فى برامج التربية (عن Parlevliet 2002).

وفى العائلة الوردية يتكون السيانيد السام بالتحلل الإنزيمى للأميجدالين amegdalin (شكل 7-13).

amygdalin hydrolase
purnacin hydrolase
hydroxynitril-lyase
Glu-Glu-O-C-H C≡N
amygdalin
Glu—C-H C≡N
purnacin
HO-C-H C≡N
D-mandelonitril
O=C-H
benzaldehyde
+ HCN prussic acid

شكل ((7-13): تكون السيانيد بالتحلل الإنزيمى للأميجدالين amegdalin (عن Oku 1994).

إن إنتاج السيانيد قد يكون سلاحًا ذا حدين؛ فبينما يوفر للنباتات حماية ضد الكائنات الدقيقة الحساسة له، فإنه قد يمنع تفاعلات الدفاع الطبيعية. فمثلاً .. وجد أن سلالات المطاط التى تنتج السيانيد بوفرة كانت أكثر قابلية للإصابة بالفطر Microcylus ulei عن السلالات الأقل قدرة على إنتاج السيانيد. وقد تبين أن الـ HCN ثبط تراكم الفيتوألاكسين: scopoletin فى نباتات المطاط.

خامسًا: السابونينات

إن السابونينات saponins عبارة عن جلوكوسيدات ترتبط بواحدة من أربعة طرز من الأجليكونات alygcones، هى: الـ triterpene، والـ spirostanol، والـ alkaloid، والـ furostanol، كما أنها قد تكون monodesmosidic أو bidesmosidic حسبما إذا كانت تحتوى على سلسلة سكرية saccharide chain واحدة، أم سلستين، على التوالى.

تنتشر السابونينات بكثرة فى المملكة النباتية، وفى حصر شمل 1790 نوعًا نباتيًّا وجدت السابونينات فى 79% منها. ونجد أن الخلايا الحساسة للسابونينات تحتوى على استيرولات sterols فى أغشيتها الخلوية تتحد مع السابونينات لتكون معقدات غير ذائبة؛ تتسبب فى تحول الأغشية الخلوية إلى صورة جامدة تحتوى على ثقوب سداسية بقطر 8 نانوميتر ترشح من خلالها محتويات الخلايا.

هذا .. وتنتج الفطريات التى تنجح فى التغلب على السابونينات إنزيمات تلغى التأثير السام للسابونينات، والتى من أمثلتها الفطر Gaeumannomyces graminis الذى يعيش فى التربة ويصيب جذور النجيليات (يُحدث مرض Take-all)، مثل القمح والشعير والراى، إلا أن الشوفان يعد مقاومًا لهذا الفطر نظرًا لأن جذوره تحتوى على أربعة أنواع من السابونينات ذات تركيب متقارب أطلق عليها اسم أفاناسينات avenacins (شكل 7-14)، تقوم بحماية الجذور من عدة فطريات بمن فيها فطر G. graminis. ولقد اكتشفت مؤخرًا عزلة من هذا الفطر كانت قادرة على إصابة الشوفان بسبب إنتاجها للإنزيم avenacinase وهو إنزيم يحلل الأفيناسين إلى مركبات أقل سمية للفطر (عن Parlevliet 2002).

سادسًا: التربينات

من بين التربينات terpenoids التى أظهرت دورًا واضحًا فى المقاومة للأمراض الـ duvatrienediols التى تتواجد فى أديم بشرة أصناف التبغ المقاومة للفطر Peronospora tabacina، والتى تـؤدى إزالتها بالمذيبـات إلى زيـادة قابليـة التبغ للإصابة بالفطر بشدة. كذلك أمكن التعرف على طراز C19 من الـ kaurane لـ diterpene من أوراق أرز سليمة لأحد الأصناف النشطة ضد الفطر Xanthomonas campestris pv. oryzae (شكل 7-16).

1 Avenacin A-1 R^1 = OH, R^2 = NHMe
2 Avenacin A-2 R^1 = OH, R^2 = H
3 Avenacin B-1 R^1 = H, R^2 = NHMe
4 Avenacin B-2 R^1 = H, R^2 = H

شكل (7-14): الأفيناسينات avenacins أرقام 1، 2، 3، 4 من جذور الشوفان.

شكل (7-15): تربينات الـ duvatrienediols التى تتواجد فى أديم بشرة اصناف التبغ المقاومة لمرض البياض الزغبى. يتواجد المركب الموضح بالشكل (وهو 4,8,13-duvatriene-1,3-diol) على صورتين isomeric، هما: α، و β.

سابعًا: الاستِلبينات

تتواجد الاستِلبينات stilbenes - غالبًا - فى الخشب الصميمى للأشجار، وهو الذى يكون مقاومًا للأعفان، ويعتقد بأنها تُسهم فى توفير بيئة مضادة للميكروبات فى هذا النسيج. ومن أكثر تلك المركبات تواجدًا كلا من: الـ pinosylvin، والـ pinosylvin monomethyl ether (شكل 7-17؛ عن Strange 1993).

شكل (7-16): Oryzalide A، وهو kaurene diterpene يتواجد فى أوراق العلم flag leaves لأصناف الأرز المقاومة للبكتيريا Xanthomonas campestris.

شكل (7-17): الاستِلبينات: pinosylvin، و pinosylvin monomethyl ether اللذان يتواجدان - عادة - فى الخشب الصميمى للأشجار.

ثامنًا: التانينات

يُثبط المستخلص الميثانولى لنباتات الكاكاو Theobroma cacao إنبات جراثيم الفطر Crinipellis perniciosa مسبب مرض مكنسة الساحر witches broom، الذى يعد من أخطر أمراض الكاكاو. وقد تبين أن المكون الرئيسى المثبط للفطر فى هذا المستخلص عبارة عن polymeric procyanidin، وهو من التانينات tannins. هذا .. ويزيد تركيز المثبط فى أصناف الكاكاو المقاومة للفطر عما فى الأصناف القابلة للإصابة.

تاسعًا: البروتينات

ما يعنينا فى هذا المقام البروتينات السابقة التكوين، وليست تلك التى يكون تكوينها نشطًا بعد بدء الإصابة المرضية.

ومن أبرز البروتينات السابقة التكوين، ما يلى:

1 - الجليكوبروتينات الغنية بالهيدروكسى برولين Hydroxyproline-rich glycoproteins (اختصارًا: HRGP):

إلى جانب دور الـ HPGP فى تدعيم الجدر الخلوية، فإنها تفرض على المسبب المرضى إنتاج إنزيمات معينة محللة. وعلى الرغم من أن تلك البروتينات تكون سابقة التكوين وتشكل حتى 5-10% من الوزن الجاف للجدار الخلوى الابتدائى، فإن تمثيلها فى النبات يزداد عقب تعرضه للإصابات الميكروبية.

2 - مثبطات البروتينيز:

يعرف عديد من مثبطات البروتينيز proteinase inhibitors فى كثير جدًّا من الأنواع النباتية، وغالبيتها خاصة بالـ serine proteinases.

وقد أوضحت الدراسات أن نباتات التبغ المحولة وراثيًّا بجين اللوبيا trypsin inhibitor وعُبِّر فيها عن البروتين بنسبة حوالى 1% من البروتين الكلى بأوراق النبات - كانت أكثر مقاومة لتغذية يرقات Heliothis virescens. كذلك كانت أوراق التبغ المحولة وراثيًّا ببروتينات الطماطم والبطاطس: Inhibitor II مثبطة ليرقات Manduca sexta. وربما تلعب مثبطات البروتينيز دورًا آخرًا مع مسببات الأمراض - قد يكون مغايرًا لما سبق بيانه مع الحشرات - إذا إنها قد توفر مصدرًا للأحماض الأمينية التى تلزم لتمثيل بروتينات الكائنات الدقيقة، كما قد تحلل بروتينات الدفاع النباتية.

3 - مثبطات البولى جالاكتيرونيز:

إن إنزيمات البولاجالاكتيرونيز polygalacturonases تعد غاية فى الأهمية لعديد من المسببات المرضية، والتى لا تتمكن بدونها من التمكن من عوائلها. ولذا .. فإن تواجد أى مثبطات لتلك الإنزيمات يشكل نظامًا دفاعيًّا ضد عديد من الفطريات والبكتيريا الممرضة للنباتات. ولقد أمكن عزل بروتينات مثبطة للبولى جالاكتورنيز من جمع نباتات ذوات الفلقتين التى تمت دراستها. وهذه البروتينات تُسهم فى المقاومة العامة للفطريات ليس - فقط - بتثبيطها لإنزيمات الطفيل، وإنما كذلك بتحفيزها لإنتاج مثيرات استجابات دفاعية فعالة كتلك التى تؤدى إلى استجابة فرط الحساسية، واللجننة، وتمثيل الفيتوألاكسينات. وتعد بعض الـ oligogalacturonides والتى تكون على درجة معينة من البلمرة - والتى تنتج بفعل نشاط البولى جالاكتونيز - من المثيرات عالية النشاط. وتجدر الإشارة إلى أن مثبطات البولى جالاكتورنيز تطيل من فترة بقاء الـ oligogalacturonides المؤثرة كمثيرات، وهى التى تكون بالدرجة اللازمة من البلمرة.

4 - اللِكتينات:

إن اللِكتينات lectins عبارة عن بروتينات رابطة للمركبات الكربوهيدراتية، تقوم بربط الجليكانات glycans فى الجليكوبروتينات glycoproteins، أو الـ glycolipids، أو عديدات التسكر polysaccharids بقوة كبيرة. ومعظم اللِكتينات التى تمت دراستها تخزن إما فى الفجوات العصارية، وإما فى الجدر الخلوية أو فى المسافات بين الخلايا. وترتبط بعض اللِكتينات بالشيتين chitin؛ مما يؤثر فى نمو الحشرات والفطريات التى تحتوى - كلتاهما - على شيتين. فمثلاً .. يرتبط الهِيفين hevein - وهو بروتين صغير (4.7 كيلودالتون) غنى بالسيستين - بالشيتين؛ مما يؤثر سلبيًّا فى عديد من الفطريات. ويشترك مع الهِيفين فى تلك الخصائص بروتينات أخرى تعرف باسم ثايونينات thionins - تحتوى على ست أو ثمانى cysteine residues وتكون شديدة السمية ليس فقط للفطريات، وإنما - كذلك - للبكتيريا والحشرات والحيوانات عمومًا. وقد كان لأحد مجموعات الـ thionins فى أوراق الشعير دورًا كبيرًا فى الدفاع ضد المسببات المرضية.

5 - إنزيمات الشيتينيز:

على الرغم من إنتاج النباتات لبروتينات يظهر فيها نشاط لإنزيمات الشيتينيز chitinases كرد فعل دفاعى نشط على أثر التعرض للإصابة، فإنه تتوفر أدلة على أن بعض النباتات تحتوى على إنزيمات شيتينيز سابقة التكوين كذلك؛ فقد وجدت تلك الإنزيمات فى الحبوب الصغيرة، واللبن النباتى latex لنبات المطاط Hevea brasiliensis الذى تبين أنه يحتوى على مستويات عالية من كل من إنزيمات الشيتينيز العادية وإنزيمات الشيتينيز القادرة على تحليل جدر الخلايا البكتيرية (Chitinases with lysozyme activity).

6 - بروتين الثوماتين:

اكتُشِفَ وجود بروتين يشبه الثوماتين thaumatin (وهو بروتين دفاعى يتكون بطريقة نشطة فى التبغ على أثر تعرضه للإصابة) .. اكتشف وجوده كبروتين سابق التكوين فى عديد من النباتات.

7 - بوليببتيدات مثبطة للفيروسات:

يحتوى عديد من أفراد رتبة Caryophyllales، مثل Phytolacca americana على مثبطات للفيروسات سابقة التكوين عبارة عن بوليببتيدات يتكون بعضها من 116 حامض أمينى تعمل كمثبطات قوية ضد عملية الـ mRNA translation، وينَّظم عملها من خلال الـ 60S subunit للريبوسوم. وفضلاً عما تحتويه النباتات من تلك البروتينات قبل تعرضها للإصابة، فإن تمثيلها يزداد - كذلك - على أثر تعرض النباتات للإصابات الفيروسية (عن Strange 1993).

المقاومة السلبية لأمراض ما بعد الحصاد

تتنوع كثيراً آليات المقاومة السلبية لمحاصيل الخضر والفاكهة - بعد الحصاد - للإصابات المرضية، كما يلى.

1 - تثبيط تكوين الـ appressoria:

تعد الـ appressoria ضرورية لعديد من الفطريات لكى تتمكن من اختراق السطح النباتى، إلاّ أن بعض الكحوليات ذات السلاسل الطويلة جدًّا - التى تتواجد فى عديد من الشموع النباتية السطحية تثبط تكوين تلك الـ appressoria. وفى المقابل .. فإن بعض أنواع الدهون النباتية السطحية ربما تستحث إنبات الجراثيم الفطرية وتكوين الـ appressoria.

2 - غياب منبهات إنبات الـ appressoria:

يؤدى تواجد بعض المركبات الكيميائية النباتية المتطايرة وغير المتطايرة إلى تثبيط إنبات الـ appressoria. وقد تفشل الـ appressoria فى الإنبات نتيجة لغياب عامل منبه لإنباتها. ويعتقد بأن الإثيلين الذى تنتجه الثمار عند نضجها يمكن أن يحفز إنبات الـ appressoria التى قد تتواجد على سطح تلك الثمار، وذلك بتركيزات أقل بكثير مما يُنتج أثناء نضج الثمار.

3 - تثبيط اختراق الـ infection peg الذى ينتجه الـ appressorium لأديم البشرة:

تقوم الفطريات التى تخترق الأسطح النباتية بصورة مباشرة - مثل Botryis cinerea - بإفراز إنزيم الكيوتينيز cutinase عند موضع الاختراق، ويؤدى تواجد مثبطات الكيوتينيز فى طبقة الأديم غير المجروحة إلى منع اختراق تلك الفئة من الفطريات له.

هذا .. إلا أن إنبات الـ appressoria ربما يعتمد على إنزيمات أو عوامل أخرى إضافية غير الكيوتينيز، كما يلى:

أ - قد يشكل الأديم عائقًا فيزيائيًا أمام اختراق الفطر:

من أمثلة تلك الحالة أن مقاومة ثمار الخوخ للإصابة بالفطر Monilina fructicola ترتبط بسمك كل من الأديم والجدر الخلوية، حيث تزداد الفترة من العدوى بالفطر إلى حين ظهور أعراض الإصابة بزيادة سمك الأديم والجدر الخلوية، كما يحدث الأمر ذاته فى النكتارين.

ب - احتواء الأديم على مثبطات لاختراق الفطريات:

من أمثلة ذلك تثبيط تطور الفطر M. fructicola فى ثمار الخوخ غير الناضجة بسبب احتواء القشرة الخارجية للثمار على أحماض فينولية.

جـ - توجد مثبطات للإنزيمات الـ pectolytic (التى تعمل على إذابة البكتين) .. مثل مثبطات الـ pectate lyase، وخاصة فى المراحل المبكرة جدًّا من الإصابة.

4 - تثبيط استعمار الفطر للنسيج النباتى بفعل عوائق سابقة التواجد:

يمكن أن يتحقق ذلك التثبيط بفعل أى من الآليات التالية:

أ - تواجد مركبات كيميائية مثبطة للنمو الفطرى:

الأمثلة على تلك المركبات كثيرة جدًّا، ومنها ما يلى:

(1) يؤدى تواجد المركب 1-acetoxy-2-hydroxy-4-oxo-heneicosa-12,15-diene فى ثمار الأفوكادو غير الناضجة إلى منع نمو الفطر Colletotrichum gloeosporioides.

(2) يؤدى تواجد المركبين: 5-12,cis-heptadecenyl resorcinol، و 5-pentadecenyl resorcinol فى ثمار المانجو غير الناضجة إلى منع نمو الفطر Alternaria alternata.

(3) تحتوى ثمار الليمون الأضاليا الخضراء المكتملة التكوين على تركيزات عالية من الـ citral تحد من إصابة الثمار بالأعفان.

وفى جميع الحالات السابقة ينخفض تركيز المركبات السامة للفطريات مع تقدم الثمار فى النضج؛ مما يجعلها أكثر تعرضًا للإصابة بالأعفان.

ب - حدوث زيادة فى إنتاج المركبات الكيميائية المثبطة للفطريات (التى تتواجد أصلاً قبل حدوث الإصابة) بعد الإصابة (عن Prusky 2003).

المقاومة النشطة التركيبية

تؤدى الإصابة فى حالة المقاومة النشطة التركيبية إلى حث العائل على تكوين دفاعات تركيبية defense structures معينة تحد من استمرار انتشار الإصابة فى نسيج العائل، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

تكوين اللجنينات

دور اللجنينات فى المقاومة

تلعب اللجنينات دورًا هامًّا فى المقاومة لعديد من الأمراض، وذلك من خلال عملها كعائق فيزيائى أمام تقدم المسببات المرضية، وتتحدد مدى فاعليتها فى الحد من الإصابة على السرعة التى تنتج بها، وليس على مدى تراكمها. هذا .. وتقوم النباتات بتمثيل طرز جديدة من اللجنينات فى حالات المقاومة، كما يتم تنشيط عمل الإنزيمات التى تلعب دورًا فى عملية اللجننة lignification فى تفاعلات المقاومة، كما قد تلعب بادئات اللجنين دورًا فى المقاومة (عن Vidhyasekaran 1988).

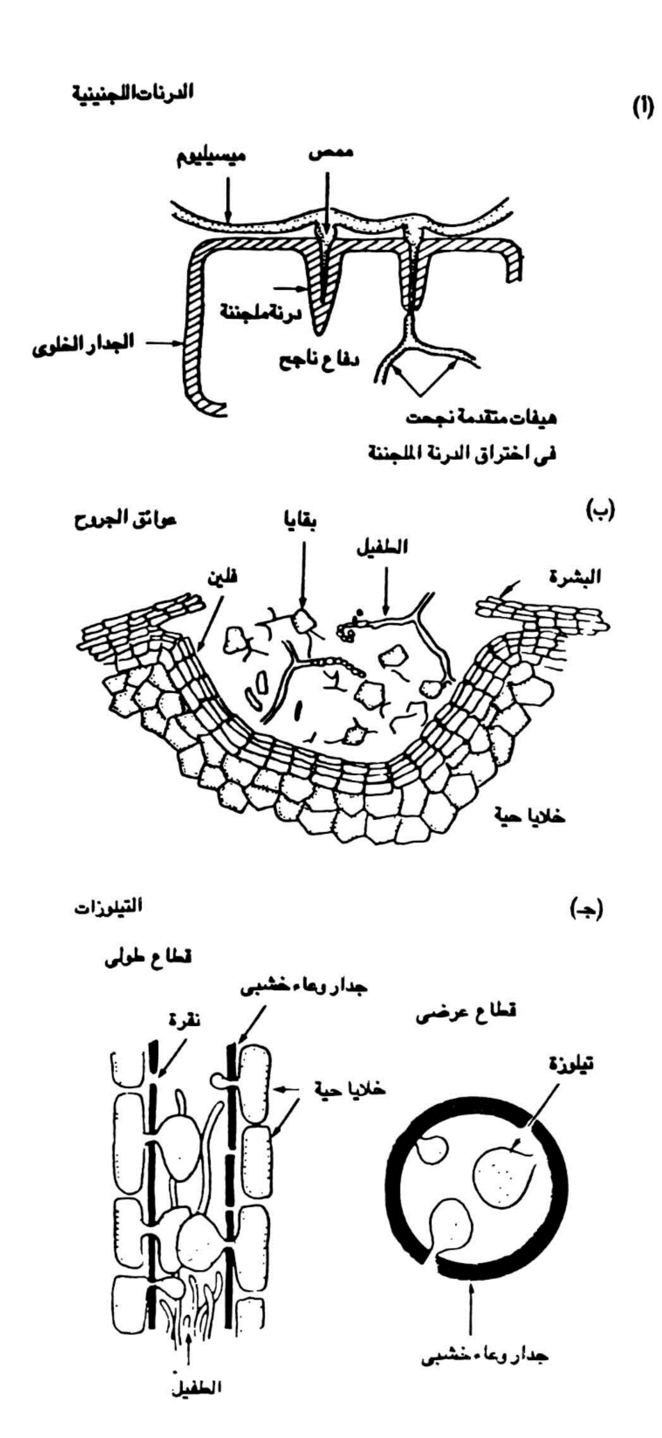
تتكون اللجنين legnin إما فى الجدر الخلوية التى تزداد سمكًا، وإما مع مركبات أخرى كالسيليلوز، والكالوز حول هيفات الفطر، مكونًا ما يعرف باسم الدرنات اللجنينية lignitubers (شكل 7-18أ). وقد استعمل هذا المصطلح لأول مرة فى وصف الزيادة التى تحدث فى سمك جدر خلايا القمح مقابل ميسيلوم الفطر Gaeumanomyces graminis - المسبب لمرض Take-all - لدى اختراقه للعائل. يحدث الانتفاخ فى الجدر الخلوية بمجرد ملامسة الميسليوم لها. وقد لوحظت هذه الظاهرة بعد ذلك فى حالات مرضية أخرى، كما فى البسلة عند إصابتها بالفطر Botrytis cinerea، والطماطم عند إصابتها بأى من الفطرين Verticillum albo-atrum، و V. dalhiae، والخيار عند إصابته بالفطر Corynespora cucumerinum.

ويكون انتفاخ الجدر الخلوية مصاحبًا بتحلل فى الخلايا النباتية المصابة؛ الأمر الذى يحصر الإصابة فى عدد محدود من الخلايا. وقد أوضح التحليل الكميائى للدرنات اللجنينية أنها ترسبات سيليوزية محاطة بطبقة من اللجنين (عن Dixon 1981).

وتختلف ظاهرة تكوين الدرنات الملجننة عن ظاهرة دفاعية أخرى هى إحاطة الميسيليوم المتقدم بطبقة سيليلوزية، وتختلف كلتاهما عن ظاهرة الـ Callosities التى تتميز بتكوين نموات كالوسية بارزة تلاحظ فى الجدر الخلوية المقابلة للجدر التى تخترقها الفطريات، وتستطيل هذه النموات عموديًّا على الجدر وفى مواجهة الميسليوم المتقدم؛ الأمر الذى قد يمنع تقدم النمو الفطرى.

ويصعب كثيراً تحديد الارتباط بين اللجننة والمقاومة؛ إذ إن ذلك يتطلب تحديد ما إذا كانت اللجننة تحدث فى الوقت المناسب، وبالقدر الكافى، وفى الموضع المؤثر أم لا، وتلك أمور يصعب كثيراً دراستها مقارنة بالوضع مع إنتاج الفيتوألاكسينات، خاصة وأن مبدأ تركيز الحد الأدنى للجرعة المثبطة للمسبب المرضى الذى يتم تقديره فى حالة الفيتوألاكسينات لا يمكن تطبيقه فى حالة اللجننة.

وقد تبين أن عملية اللجننة شكلت جانبًا من استجابة فرط الحساسية فى القمح ضد الفطر Puccinia graminis؛ فقد وجد أن القمح استجاب للعدوى بسلالات الفطر غير المتوافقة معه بترسيب اللجنين وحث تكوين الإنزيـمات ذات العلاقة بعملية اللجننــة،



شكل (7-18): المقاومة "التركيبية" للأمراض: (أ) تكوين الدرنات اللجنينية، (ب) تكوين عوائق الجروح، (جـ) تكوين التيلوزات.

(وهى: phenylalanine ammonia-lyase - اختصارًا: PAL -، و 4-coumarate CoA ligase، و cinnamyl alcohol dehydrogenase، و peroxidase). وقد أدى تثبيط اللجننة باستخدام مثبطات الـ PAL، و cinnamyl alcohol dehydrogenase (وهو إنزيم خاص باللجننة فقط) إلى تثبيط استجابة فرط الحساسية. ويعنى ذلك أن عملية تراكم بادئات اللجنين يكون لها علاقة سببية مباشرة بتطوير المقاومة ضد الفطر P. graminis فى القمح.

كذلك يترسب اللجنين كاستجابة دفاعية ضد بعض الإصابات البكتيرية، كما فى حالة المقاومة المتخصصة فى الأرز الذى يحمل الجين Xa-10 ضد الفطر Xanthomonas oryzae، والتى ترتبط بترسيب اللجنين عند موقع الإصابة فى خلال 18-24 ساعة من العدوى فى التفاعلات غير المتوافقة، فى الوقت الذى لا يلاحظ فيه أى ترسيب للجنين حتى 96 ساعة من الإصابة فى التفاعلات المتوافقة. كذلك يُشاهد فى التفاعلات غير المتوافقة تناقصًا فى أعداد البكتيريا فى النسيج النباتى مع بداية ترسيب اللجنين (عن Nicholson & Hammerschmidt 1992).

إن الاستجابة الدفاعية للنباتات عن طريق اللجننة لا تكون دائمًا موضعية؛ حيث تتوفر أدلة على أنها تكون جهازية - كذلك - فى بعض الحالات. فمثلاً .. أحدثت الإصابة الموضعية للخيار بالفطر Collctototrichum lagenarium حماية جهازية كانت مصاحبة بلجننة سريعة. كذلك وجد أن حقن الخيار بفيرس تحلل التبغ عزَّز استجابة اللجننة لدى عدوى النباتات ذاتها - بعد ذلك - بالفطر Sphaerotheca fuliginea.

وتتماثل عملية اللجننة فى بعض سماتها مع عملية تراكم الفيتوألاكسينات، التى سيأتى بيانها لاحقًا؛ ففى كليهما يحدث وقف لعمل كابحات الجينات (أى يحدث derpression للجينات)، يتم على أثرها تمثيل إنزيمات لم تكن تُمثَّل، مثل إنزيمات الـ phenylpropanoid pathway؛ الأمر الذى يقود إلى سلسلة أخرى من التفاعلات الإنزيمية، وهى التى تختلف بطبيعة الحال - عند تمثيل المركبات اللازمة لتكوين اللجنين (مثل الـ coumaryl alcohol، والـ coniferyl alcohol، والـ sinapyl alcohols) - عما يكون عليه الحال عند تكوين الفيتوألاكسينات.

نجد فى القمح أن عملية اللجننة تقتصر على حالات الإصابة بالفطريات، ويلعب فيها الشيتين chitin دورًا رئيسيًّا، وذلك بعد تغيير تركيبه - إنزيميًّا - ليصبح مكونًا من oligomers.

ويعتقد بأن اللجننة تُسهم فى مقاومة النباتات للأمــراض بزيادة القوة الميكانيكية التى تلزم الفطريات لتتمكن من اختراق النبات، وبزيادة مقاومة الجدر الخلوية للتحلل بفعل إنزيمات المسببات المرضية، كما تضع عوائق غير منفذة أمام انسياب العناصر المغذية والسموم. هذا إلى جانب أن بادئات اللجنين ذاتها تكون سـامة للمسببات المرضية.

واللجننة عملية تتطلب تمثيل بروتينات عديدة، ويستدل على ذلك من أن معاملة النباتات بمثبطات البروتين، مثل الـ cycloheximide، أو بالمركب α-amino-oxyacetic acid الذى يثبط الإنزيم phenyl ammonia lyase على وجه الخصوص .. تؤدى إلى تثبيط عملية اللجننة وزيادة نجاح المسببات المرضية فى استعمار العائل عما فى النباتات غير المعاملة (عن Strange 1993).

تمثيل اللجنينات

يتم تمثيل اللجنينات lignins فى النباتات عن طريق ثلاثة مسارات أيضية، هى:

1 - الـ shikimic acid pathway (شكل 7-19).

2 - الـ Phenylpropanoid pathway (شكل 7-20).

3 - الـ Cinnamic acid pathway (شكل 7-21).

ومن أهم الإنزيمات التى تنشط فى عملية تمثيل اللجنينات، ما يلى:

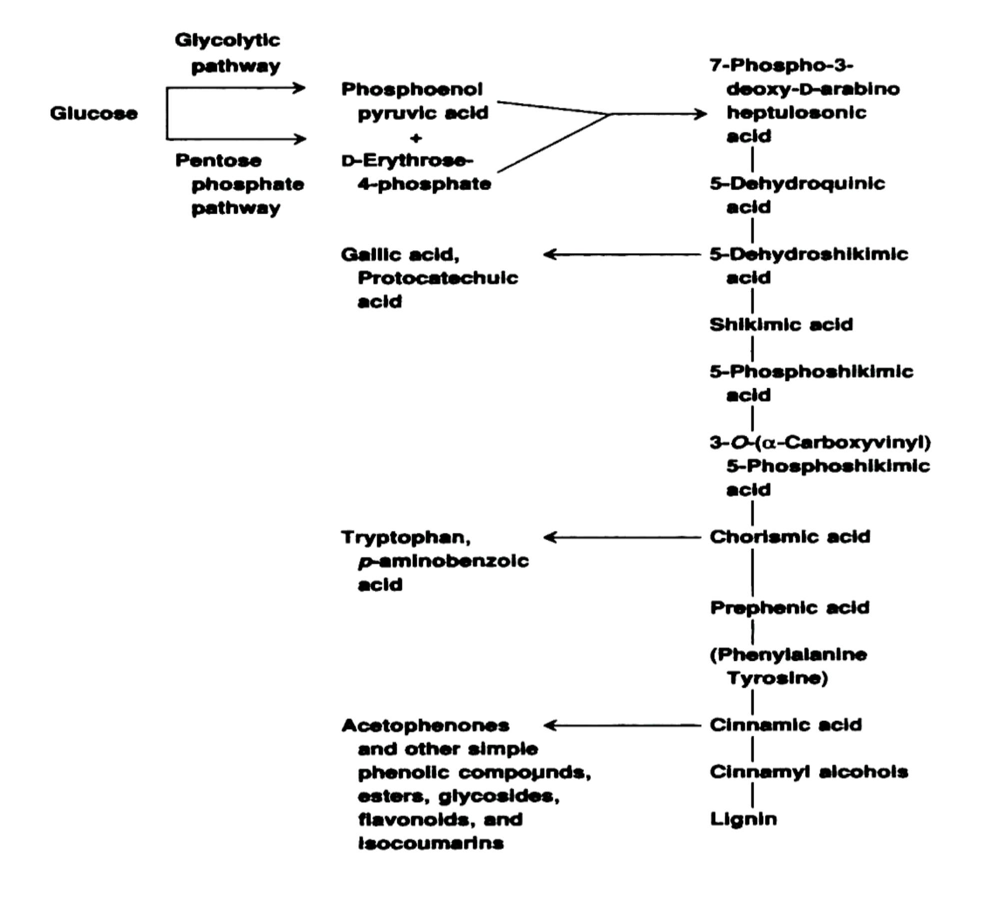
phenylalanine ammonia lyase

tyrosine ammonia lyase

peroxidase

caffeic acid-o-methyl transferase

cinnamyl alcohol dehydrogenase



شكل (7-19): تمثيل اللجنين عن طريق الـ shikimic acid.

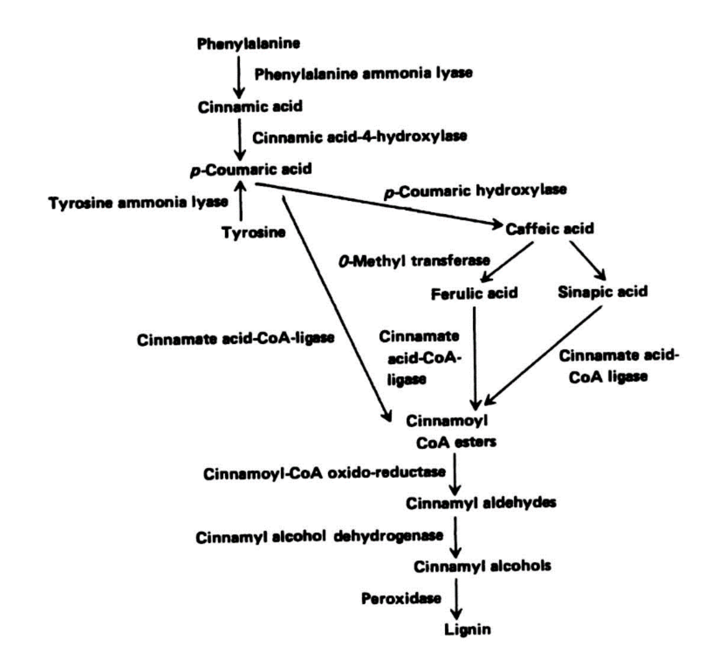
ومن أهم بادئات اللجنين، ما يلى:

coniferyl alcohol

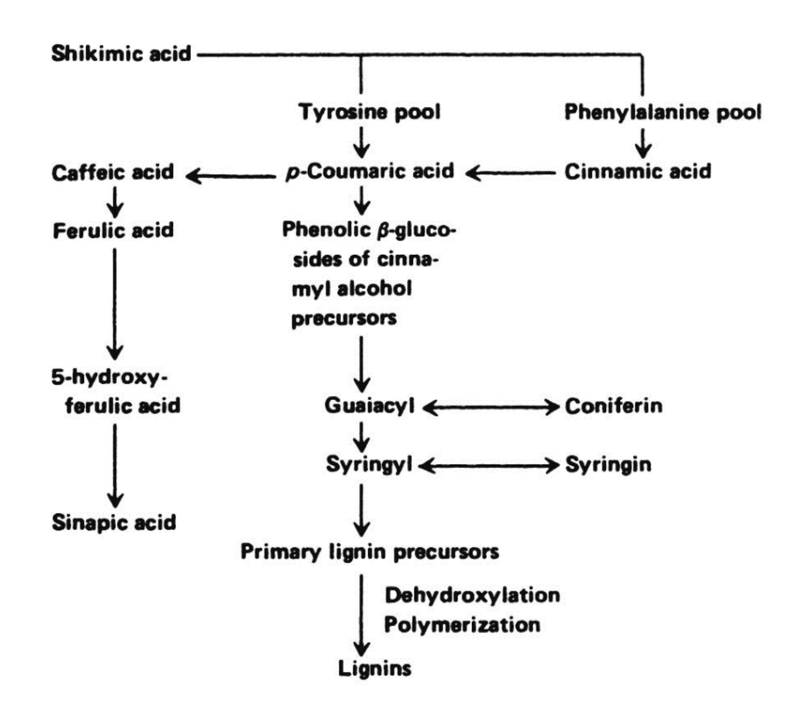
p-coumaric acid

ferulic acid

caffeic acid



شكل (7-20): تمثيل اللجنين عن طريق الـ Phenylpropanoid pathway.



شكل (7-21): تمثيل اللجنين عن طريق الـ Cinnamic acid pathway (عن Vidhyasekaran 1988).

هذا .. وفى حالات قليلة تتم لجننة الهيفات الفطرية المتقدمة ذاتها؛ مما يمنع تقدمها.

ومن المعروف أن بعض الفطريات الممرضة تنتج إنزيمات محللة للجنينات، مثل: الـ lacase، والـ O-diphenoloxidase، والـ peroxidase.

وفى حالات قليلة وجد أنه لم يكن لِلّجنينات المتكونة أى دور فى المقاومة (عن Vidhyasekaran 1988).

تكوين الـ papilla وترسيب الكالوز

تتكون زوائد شبيهة بالحلمة فى مرحلة مبكرة من اختراق الفطريات للأنسجة النباتية، تظهر كبروزات من الجدار الخلوى وتبقى محصورة بينه وبين الغشاء البلازمى. يتطور هذا البروز - الذى ينشأ كاستجابة دفاعية فى مواجهة الإصابة بالفطريات - ويغطى الهيفا الفطرية المتقدمة لدى استطالتها، كما يظهر حول الإصابات البكتيرية. وتعرف تلك التركيبات بعديد من الأسماء، منها: papilla، و collar، و callosity، و lignitubers، و appositional wall thickening. ورغم تكون الـ papilla فى عديد من الإصابات المرضية الفطرية فإن دورها فى المقاومـة لا يكون واضحًا إلاّ فى أمراض معينة دون غيرها، حيث تؤدى إلى فشل المسببات المرضية فى الاستمرار فى اختراقها للأنسجة النباتية.

وقد أوضحت الدراسات أن تكوين الـ papilla لا يحدث فى حالة الأمراض الفطرية فقط، وإنما – كذلك – فى حالات الإصابات الفيروسية، والبكتيرية، والنيماتودية، كما يمكن أن تتكون الـ papilla من جراء أى ضرر تتعرض له الخلايا ولو بوخزة إبرة.

تختلف مكونات الـ papilla عن مكونات الجدر الخلوية، وهى تظهر نتيجة ترسب بعض المكونات السيتوبلازمية بين الجدر الخلوية والأغشية البلازمية، ومن مكوناتها: اللجنين، والسيوبرين، والسيليلوز، والبكتين، ومادة صمغية، والسيليكا، والـ callose 1,3-glucan، والبيروكسيديز؛ هذا إلاّ أن تلك المكونات تختلف من نبات لآخر، ومن حالة مرضية لأخرى (عن Oku 1994).

أما الكالوز callose – الذى يعد مكونًا طبيعيًّا للجدر الخلوية السميكة – فهو β-1,3-linked glucan يترسب غالبًا كاستجابة مبكرة للتجريح أو الإصابة المرضية، كما فى أصناف الخيار المقاومة للفطر Cladosporium cucumerinum المسبب لمرض الجرب، كما يرتبط بظاهرة المقاومة المكتسبة، ولكن – كما فى حالة اللجنين – يصعب ربطه بوضوح بالمقاومة. وتجدر الإشارة إلى أن الكالوز يترسب – كذلك – فى الـ papillae.

وقد وجد فى الشعير الذى يحمل الجين mlo المسئول عن المقاومة للفطر Erysiphe graminis f. sp. hordei مسبب مرض البياض الدقيقى أن معاملة النباتات بمثبط تكوين الكالوز: 2-deoxy-D-glucose قلل تكوين الـ papillae المحتوية على الكالوز وزاد من كفاءة الفطر فى اختراق النبات (عن Strange 1993).

ونجد فى الخس أن الفطر Plasmopara lactucae-radicis يستعمر جذور النباتات فى كل من الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة بالفطر على حد سواء؛ حيث تظهر بكل منها هيفات الفطر بين الخلايا، كما تظهر الممصات الفطرية داخل الخلايا، إلاّ أن الفطر لا يمكنه التجرثم فى جذور الأصناف المقاومة. هذا .. فضلاً عن أن ممصات الفطر تكون أكبر حجمًا فى جذور الأصناف المقاومة ولكنها تكون محاطة بالكالّوز callose، وهو نـوع من التركيب الدفاعـى للنباتات يتكون عقب التعرض للإصابة ببعض الفطريات. ومما يؤيد أهمية تكوين الكالّوز كنظام دفاعى أن منع تمثيله بمعاملة النباتات بالمركب 2-deoxy-D-glucose (الذى يمنع تمثيل الكالّوز) أدى إلى زيادة كفاءة اختراق الفطريات الممرضة للنباتات. وقد حدث الأمر ذاته لدى معاملة جذور الخس المقاوم للفطر P. lactucae-radicis بهذا المركب (Stanghellini وآخرون 1993).

تكوين عوائق الجروح

تتكوّن أنسجة تعوق نمو الطفيل بعد جرح أنسجة العائل سواء أكان التجريح بالوسائل الميكانيكية، أم نتيجة لإصابات مرضية. تعرف هذه الأنسجة باسم **Wound Barriers** (شكل 7-18ب)، وما يحدث هو أن الخلايا المصابة (المجروحة) تموت، ثم تتراكم مركبات مثل السيوبرين **suberin**، واللجنين، والصموغ، والتانينات فى الخلايا المجاورة لها، ثم تتكون – بعد أيام قليلة – طبقة من الفلين، هى التى تقوم بالدور الأكبر فى الحد من انتشار الإصابة المرضية.

ومن أبرز الأمثلة على ذلك تكوّن **wound barrier** لدى إصابة درنات البطاطس بالفطر **Streptomyces scabies** المسبب لمرض الجرب العادى؛ مما يؤدى إلى وقف تقدم الإصابة، ولكن مجرد تكوين الفلين – فى هذه الحالة – يعنى ظهور أعراض المرض.

وتعرف السوبرة **suberization** بأنها عملية ترسب السيوبرين **suberin**، وهو مكون طبيعى بالأنسجة النباتية، ولكن تمثيله – مثل اللجنين – يمكن أن يتعزز ويزداد لدى تعرض النبات للإصابة بالكائنات الدقيقة. وكمثال على ذلك .. وُجدَ ارتباط موجب بين معدل ترسيب السيوبرين فى الخوخ والمقاومة للفطر المسبب للتقرح **Leucostoma persoonii** (عن **Strange 1993**).

ويعرف تكوين التركيبات الملجننة باسم **Cicatrical Demarcation**، أو **Cicatrice**. وقد ذكر **Gaumann** فى عام 1950 أنها ربما تحد من انتشار السموم التى تفرزها الفطريات إلى الأنسجة وأطلق على هذه الظاهرة اسم **Antitoxin Defense Reaction**.

تكوين التيلوزات

إن التيلوزات **Tyloses** تراكيب تظهر فى حالات الإصابة بأمراض الحزم الوعائية، وهى عبارة عن تضخمات بالونية الشكل تبرز فى تجويف الأوعية الخشبية لدى الإصابة ببعض مسببات أمراض الذبول مثل فطرى **Verticillum albo-atrum**، و **Fusarium oxysporum**، وتعمل على منع نمو الفطر فى تلك الأوعية.

تبرز هذه التضخمات البالونية من الخلايا البرانشيمية الشعاعية الملاصقة لأوعية الخشب من خلال النقر Pits التى توصل بينهما، ولهذه التضخمات طبقتان ليفيتان (شكل 7-18جـ). وتجدر الإشارة إلى أن تكوين التيلوزات يعد محدود الانتشار، كما لم يمكن إثبات صلتها بالمقاومة فى الطماطم حيث إنها تكونت استجابة للعدوى بكل من الطفيليات المتوافقة مع الطماطم وغير المتوافقة معها على حد سواء.

ترسيب الصموغ والمواد الشبيهة بها فى الأنسجة المصابة

تعمل الصموغ التى تفرز أحيانًا على حواف البقع المرضية كنوع من المقاومة الميكانيكية التى تحد من انتشار الإصابة. وفى الكرنب .. وجد أن الأصناف المقاومة للفطر F. oxysporum f. conglutinans المسبب للاصفرار تترسب بين خلايا القشرة فى جذورها – عقب تعرضها للإصابة – إفرازات شبه صمغية تحد من استمرار نمو الفطر داخل أنسجة النبات (عن Dixon 1981).

تكوين طبقات الانفصال

يؤدى تكوين طبقات الانفصال Abscission Layers – عقب الإصابة – إلى سقوط الأجزاء المصابة؛ الأمر الذى يحد من استمرار انتشارها فى النبات، كما فى مرض shot-hole فى الفاكهة ذات النواة الحجرية.

المقاومة النشطة الكيميائية والفسيولوجية

عندما تكون المقاومة النشطة كيميائية أو فسيولوجية .. فإن النبات يقاوم الطفيل لدى إصابته له ببدء تغيرات كيميائية وفسيولوجية تحد من نشاط الطفيل فى النبات أو توقف تقدمه نهائيًّا. وجدير بالذكر أن هذه التغيرات الدفاعية لا تبدأ فى الحدوث إلا بعد مهاجمة المسبب المرضى لخلايا العائل، وأن ما يورث هنا هو قدرة العائل على الاستجابة الدفاعية ضد عملية التطفل.

ونظرًا لأهمية الدور الذى تلعبه المركبات الفينولية فى المقاومة للأمراض، سواء أكانت تلك المركبات سابقة التكوين – كما أسلفنا بيانه – أم ينشط تكوينها بعد تعرض النباتات للإصابة، فإننا نبدأ بها موضوع المقاومة النشطة الكيميائية والفسيولوجية؛ إذا إنها كثيرًا ما تكون هى ذاتها المسئولة عن المقاومة.

دور الفينولات فى المقاومة النشطة

أولاً: الفينولات التى ينشط تكوينها عقب التعرض للإصابة

تلعب الفينولات التى ينشط تكوينها عقب التعرض للإصابة دورًا كبيرًا فى مقاومة عديد من الأمراض، كما تحدد السرعة التى تتكون بها تلك الفينولات مدى شدة المقاومة.

ومن أمثلة ذلك، ما يلى:

1 – لا يمكن للفطرين: Fusarium oxysporum f. sp. lupini، و Fusarium oxysporum f. sp. callistephi إصابة الطماطم، حيث تتكون فى سيقان النباتات التى تتعرض لهما تركيزات عالية من الفينولات الكلية، والـ o-dihydric phenols، إلا أن تلك الزيادات لا تحدث لدى عدوى النباتات بالفطر المتخصص على الطماطم: F. oxysporum f. sp. lyeopersici.

2 – لم يمكن ملاحظة ارتباط قوى بين المحتوى الفينولى والمقاومة لصدأ الساق فى أصناف القمح، إلاّ أن السرعة التى تراكمت بها الفينولات فى الأنسجة المصابة ارتبطت بشدة بنسبة السلالات التى كانت قادرة على إحداث الإصابة، كما يلى:

الصنف	السلالات القادرة على إحداث الإصابة	الفينولات الكلية (مجم/100 جم وزن طازج)
Little Club	94	30
Acme	76	68
Einkom	68	56
Kubanka	50	61
Marquis	49	49
Reliance	45	42
Mindum	35	64
Vernol	31	56
Khapi	2	80

ثانيًا: الفينولات المؤكسَدة المسئولة عن المقاومة

تتأكسد الفينولات إلى كينونات quinines بواسطة إنزيمات العائل، مثل البولى فينول أوكسيديز polyphenol oxidase، والبيروكسيديز peroxidase، ومن المعروف أن الكينونات شديدة السمية للفطريات، كما تبينت مسئوليتها عن المقاومة فى عديد من الأمراض.

ومن أمثلة ذلك، ما يلى:

1 - تُعد نباتات البطاطس الصغيرة - من جميع أصناف البطاطس - مقاومة للفطر Verticillium albo-atrum، ولكن تختفى المقاومة بعد حوالى 4-5 أسابيع من الإنبات، ويكون ذلك مصاحبًا بنقص جوهرى فى محتوى جذور الأصناف من حامض الكلوروجنك chlorogenic acid والفينولات الحرة. وعلى الرغم من وجود ارتباط بين المحتوى الفينولى والمقاومة، فإن حامض الكلوروجنك بتركيز وصل إلى 1000 جزء فى المليون - فى البيئات الصناعية - لم يكن سامًّا للفطر، علمًا بأن هذا التركيز العالى لا يتكون أبدًا فى النباتات. وقد تبين أن حامض الكلوروجنك - غير السام للفطر - يتحول فى الأصناف المقاومة إلى الصورة المؤكسَدة (الكينونات) التى تكون سامة للفطر، علمًا بأن الأصناف المقاومة (مثل: USDA 41956) يكون نشاط البولى فينول أوكسيديز فيها أقل بمقدار مالا يقل عن 50% من نشاطه فى الأصناف القابلة للإصابة (مثل: Red Warba)، حيث يستمر فى الأخيرة أكسدة الكينونات - سريعًا - إلى صور أخرى غير سامة للفطر؛ الأمر الذى لا يحدث بذات السرعة فى الأصناف المقاومة التى يتبقى فيها تركيز عالٍ من الكينونات.

2 - يزداد نشاط إنزيم البيروكسيديز جوهريًّا فى أصناف الطماطم المقاومة للذبول الفيوزارى فى خلال 24 ساعة من تعرضها للإصابة بالفطر، بينما لا يحدث ذلك فى الأصناف القابلة للإصابة إلا بعد 24 ساعة أخرى؛ الأمر الذى يرتبط بسرعة تكوين الفينولات المؤكسدة التى تحد من الإصابة (عن Vidhyasekaran 1988).

أنواع الاستجابات الدفاعية النشطة

تعد الاستجابات الدفاعية النشطة المستحثة من الصفات المميزة للتفاعلات غير المتوافقة التى تحدث فى حالات المقاومة. ويمكن تحديد ثلاث فئات - على الأقل - من الاستجابات الدفاعية النشطة فى الأنسجة النباتية، هى: الاستجابات الأولية primary responses، والاستجابات الثانوية secondary responses، والاستجابات الجهازية المكتسبة systemically acquired responses.

تنحصر الاستجابات الأولية فى الخلايا التى تصبح على اتصال مباشر بالمسبب المرضى سواء أحدث ذلك بالملامسة الخارجية المباشرة للخلية (كما فى الإصابات النيماتودية وبعض الإصابات الفطرية)، أم بالتواجد الداخلى للمسبب المرضى داخل الخلية النباتية (كما فى الإصابات الفيروسية والبكتيرية وبعض الإصابات الفطرية)، وتتضمن تلك الاستجابات التعرف على جزيئات خاصة تنطلق من المسبب المرضى وتعد بمثابة إشارة للنبات لبدء استجابته الدفاعية، علمًا بأن انطلاق تلك الجزيئات يعد أمرًا حيويًّا وأساسيًّا لنشاط المسبب المرضى ذاته. وغالبًا ما تؤدى تلك الاستجابات الأولية إلى ما يعرف بموت الخلايا المبرمج programmed cell death.

أما الاستجابات الدفاعية الثانوية فإنها تحدث فى الخلايا المجاورة التى تحيط بموقع الإصابة الأولى، استجابة لجزيئات تنتشر من موقع الإصابة (تتكون خلال التفاعل الأولى) تعرف باسم مستحثات elicitors وتكون بمثابة إشارة لبدء الاستجابة الدفاعية.

أما الاستجابات الدفاعية الجهازية فإنها تُستحث هرمونيا فى كل أجزاء النبات (عن Hutcheson 1998).

وبذا .. فإنه يمكن تقسيم الوسائل النشطة التى تقاوم بها النباتات مسببات الأمراض إلى ثلاث فئات رئيسية، كما يلى:

1 – دفاعى فورى مبكر للخلايا المصابة مباشرة، يبدأ بإشارة تعرف على الكائن الممرض المهاجم، تقود غالبًا إلى موت سريع لتلك الخلايا، فيما يعرف باستجابة فرط الحساسية hypersensitive response.

2 – تنشيط موضعى للجينات فى الخلايا المجاورة مباشرة لموضع الإصابة؛ يترتب عليه تمثيل عديد من المركبات الجديدة من مركبات المسارات الأيضية الطبيعية للنبات، مثل الفيتوألاكسينات phytoalexins؛ كما قد يترتب على تنشيط الجينات تدعيم للموانع التركيبية الطبيعية مثل الجدر الخلوية، أو إحداث تثبيط غير مباشر للمسبب المرضى.

3 – تنشيط جهازى للجينات التى تشفر لتمثيل البروتينات ذات العلاقة بالأحداث المرضية pathogensis-related proteins (اختصارًا: PRP)، مثل إنزيمات الـ 1,3-β-glucanases التى تعد مثبطة – بصورة مباشرة أو غير مباشرة – للمسببات المرضية، ولها صلة وثيقة بظاهرة المناعة المكتسبة الجهازية systemic acquired resistance (اختصارًا: SAR) (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

تكون هذه البروتينات بمثابة خط دفاع ثانٍ (فى حالة قدرة المسبب المرضى على التغلب على الموانع الطبيعية التى تقف حائلاً أما وصوله إلى الأنسجة النباتية، مثل الجدر الخلوية، والطبقة الشمعية، والمركبات الكيميائية السابقة التكوين)، وهى تنتج بواسطة جينات المقاومة المتخصصة (الـ R genes).

وتُحدث البروتينات التى تكونها جينات المقاومة فعلها عن طريق مالا يقل عن أربع آليات، كما يلى:

1 – يقوم البروتين ناتج الـ R gene بوقف نشاط سُم يفرزه المسبب المرضى، وهو السم الذى يُحدث فى العادة تحللاً أو يمنع الاستجابات الدفاعية للنبات. ومن الأمثلة على ذلك الجين Hm1 فى الذرة الذى يشفر لتكوين الإنزيم NADPH-dependent reductase، وهو الذى يوقف فعل السم HC الذى تفرزه السلالة 1 من الفطر Cochliobolus carbonum. وفى غياب هذا الجين فإن السم HC يُحدث الأعراض المرضية – فى النباتات القابلة للإصابة – بتثبيط نشاط الإنزيم histone deacetylase.

2 – يُعد البروتين ناتج الـ R gene هدفًا لنشاط الكائن الممرض، ويؤدى غيابه إلى مقاومة النبات لذلك الكائن الممرض. ومن الأمثلة على ذلك الجين الميتوكندريونى T-urf13 فى الذرة الذى يكسب النبات كلا من خاصية العقم الذكرى والحساسية للسم T الذى تفرزه السلالة T من الفطر Biopolaris maydis؛ مما يجعله قابلاً للإصابة بهذا الفطر. هذا وتعتبر أصناف الذرة التى ينقصها الجين T-urf13 مقاومة للفطر.

3 – يعد البروتين ناتج الـ R gene هو بادئ استجابات الدفاع النباتية ضد المسبب المرضى، ولعل أبرز مثال على ذلك مقاومة جين الشعير mlo للفطر Erysiphe graminis f. sp. hordei مسبب مرض البياض الدقيقى. ففى وجود الآليل السائد Mlo يحدث تنظيم لعملية موت الخلايا عقب الإصابة بالفطر؛ الأمر الذى لا يحدث فى وجود آليل المقاومة mlo.

4 – يقوم البروتين ناتج الـ R genes بالتعرف على بروتين ناتج جين عدم الضراوة Avr gene، يتبعه حدوث سلسلة من التفاعلات التى تقود إلى حدوث حالة فرط الحساسية؛ ومن ثم المقاومة (Takken & Joosten 2000).

ومن بين أهم الاستجابات النباتية الدفاعية ضد المسببات المرضية والمركبات التى تلعب دورًا هامًّا فى هذا المجال، ما يلى:

1 – إنتاج الفيتوألاكسينات phytoalexins.

2 – إنزيمات الشيتينيز chitinases.

3 – إنزيمات البيتا-1،3-جلوكانيز β-1,3-glucanases.

4 – إنتاج البروتينات ذات العلاقة بالتطفل الممرض pathogensis-related proteins.

5 – حامض السلسيلك salicylic acid.

6 – المركبات النشطة فى الأكسدة active oxygen species.

7 – حامض الجاسمونك jasmonate.

وعلى الرغم من الاكتشافات العلمية الجديدة المستمرة فى مجال أيض الدفاعات النباتية ضد مسببات الأمراض، فإن ذلك لا يقلل من أهمية الدور الذى تلعبه الاكتشافات السابقة (كالفيتوألاكسينات على سبيل المثال)؛ ذلك أن الشواهد تدل على عدم وجود مركب واحد أو نظام واحد يمكن أن يفسر المقاومة للأمراض فى النباتات، بل إن الأغلب اشتراك أكثر من مركب وأكثر من نظام فى عملية المقاومة للمسبب المرضى الواحد فى النوع النباتى الواحد (عن KuĆ 1995).

وتجدر الإشارة إلى أن المناعة المكتسبة acquired immunity، وهى ظاهرة اكتساب النبات مناعة ضد الإصابة بسلالات فيرس ما لدى إصابته بأى منها، هى نوع من المقاومة النشطة كيميائيًّا وفسيولوجيًّا، وهى الظاهرة التى يُستفاد منها فى حماية النباتات من السلالات الفيروسية العالية الضراوة؛ بتعريضها للإصابة بسلالة منخفضة الضراوة من نفس الفيرس (Allen 1959).

حث الاستجابات الدفاعية النشطة

إن المقاومات النشطة هى فى واقع الأمر استجابات مستحثة، وتعنى أن النباتات تكون قادرة على التعرف على محفز ما أو أكثر من محفز يفرزهم المسبب المرضى – خلال المراحل المبكرة من الإصابة – والاستجابة لها. ويستدل من ذلك على أن الخلايا النباتية تمتلك أنظمة للمراقبة تمكنها من التعرف على تلك المحفزات التى تنتجها الكائنات الممرضة وتستجيب لها. ويُشفَر لأنظمة المراقبة تلك بواسطة جينات المقاومة التى تُنتج بروتينات مُستقبلة receptor proteins، تتواجد فى مواقع استراتيجية فى حجيرات خلوية. ويعنى ذلك أن التحكم فى قدرة النبات على شن استجابة دفاعية نشطة تعتمد على امتلاكه لمجموعة من جينات المقاومة وعلى توقيت التعبير عنها.

إن جينات المقاومة تتواجد – عادة – فى عناقيد تكون على درجة عالية من التقارب الوراثى، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 – أمكن التعرف على خمسة مواقع كروموسومية تتحكم فى مقاومة الكتان للصدأ، وأظهر تحليل الموقعين L، و M احتواء الأول على 13 جينًا والثانى على سبعة جينات شديدة التماثل.

2 – تعد جينات الـ Cf، و Pto، و Fen، و Prf، و I2C-1 فى الطماطم جزءًا من عنقود أكبر من الجينات المتقاربة.

3 – يعتبر جين Xa21 فى الأرز جزءًا من عناقيد أكبر من الجينات المتقاربة.

ويسمح تواجد جينات المقاومة المتقاربة فى عناقيد بحدوث انعزالات أثناء الانقسام الاختزالى؛ مما يؤدى إلى ظهور خصائص جديدة لجينات المقاومة فى الأجيال المتتالية (عن Hutcheson 1998).

المقاومة النشطة: فرط الحساسية

وصفت ظاهرة فرط الحساسية لأول مرة بواسطة Stakman فى أصداء الحبوب، وذلك فى عام 1915؛ ولذا .. كان الاعتقاد حتى بدايات القرن الماضى - أن الظاهرة لا تحدث إلا مع الطفليات الإجبارية، ولكن ظهر خطأ هذا الاعتقاد فيما بعد، حيث لوحظت الظاهرة فى عديد من التفاعلات المرضية.

ويعنى باصطلاح فرط الحساسية كل التغيرات المورفولوجية، والهستولوجية، والفسيولوجية، والكيميائية التى تحدث نتيجة الإصابة بمسبب مرضى مُعْدٍ infectious Agent، وتؤدى إلى تحلل سريع وموضعى فى خلايا النسيج المصاب، ووقف نشاط المسبب المرضى عند موقع الإصابة، وتحديد موقع الإصابة؛ بما يمنع تقدم المسبب المرضى. تحدث التفاعلات التى تقود إلى حالة فرط الحساسية بمجرد حدوث تعارف خاص جدًا بين ناتج جين عدم الضراوة فى المسبب المرضى وناتج جين المقاومة فى العائل.

أما النباتات التى لا تستجيب للمسبب المرضى بالطريقة السابقة .. فإنها توصف بأنها Normsensitive.

خصائص ظاهرة فرط الحساسية

من أهم خصائص تفاعل فرط الحساسية ما يلى:

1 - لا يمكن لغير المسببات المرضية الحية بمختلف أنواعها، والفيروسات، وبعض الحشرات الثاقبة الماصة إحداث هذا التفاعل.

2 - لا يحدث التفاعل إلا فى الحالات التى لا يوجد فيها توافق بين العائل والطفيل، والتى توصف بأنها Incompatible.

3 - لا يوجد فى بداية الإصابة فرق جوهرى - فى سرعة تكاثر المسبب المرضى - بين كل من العوائل المقاومة والعوائل القابلة للإصابة.

4 - يحدث تفاعل فرط الحساسية، ويظهر التحلل necrosis المصاحب لها، فى الأصناف المقاومة، قبل ظهور أعراض المرض فى الأصناف القابلة للإصابة.

تفسير ظاهرة فرط الحساسية

تُصاحَب استجابة فرط الحساسية بواحد أو أكثر من التفاعلات الدفاعية، والتى تتضمن ما يلى:

1 - تمثيل الفيتوألاكسينات phytoalexin production.

2 - اللجننة lignification.

3 - إنتاج الإنزيمات المحللة، مثل الـ chitinases، والـ glucanases.

4 - تمثيل الجليكوبروتينات الغنية بالهيدروكسى برولين hydroxyproline rich glycoproteins.

ومن أهم مظاهر قرب موت الخلية، ما يلى:

1 - فقد الأغشية الخلوية لقطبيتها membrane depolarization.

2 - التسرب الأيونى electrolyte leakage.

3 - فشل الخلية فى أن تتبلزم بصورة طبيعية فى محلول ذات ضغط أسموزى أعلى من ضغطها الأسموزى.

وكل هذه المظاهر تعنى حدوث تدهور فى الأغشية تفقد معه الخلية خصائصها المميزة.

وقد يحدث هذا التدهور من خلال:

1 - وسائل غير إنزيمية من خلال نشاط المركبات النشطة فى الأكسدة، مثل:

- **ذرات الأكسجين المفردة singlet oxygen ($^1O_2$).**
- **أنيون الـ superoxide ($O_2^{.-}$).**
- **شق الهيدروكسيل hydroxyl radical (OH).**
- **شق البيرهيدروكسيل perhydroxyl radical ($HO_2^.$).**

2 - عن طريق الإنزيمات .. فمثلاً يزداد نشاط كلا من: lipolytic acid hydrolase، و lipoxygenase فى أوراق الفاصوليا العادية التى تتعرض للإصابة بسلالة غير متوافقة من Pseudomonas syringae pv. phaseolicola (عن Strange 1993).

ولكن .. هل يعد موت الخلايا بفرط الحساسية ضروريًّا لكى يكون النبات مقاومًا لمسببات الأمراض؟. إن الإجابة على هذا السؤال هى بالنفى؛ ذلك أن موت الخلايا قد لا يحدث، وقد يحدث كنتيجة لأحداث أخرى قادت إلى المقاومة، ولم يحدث كسبب مباشر لها. ونحن نعرف عديد من حالات المقاومة النباتية للفيروسات، والبكتيريا، والفطريات لا يظهر فيها تفاعل فرط الحساسية.

ومن أمثلة حالات المقاومة التى لا تظهر فيها فرط الحساسية، ما يلى:

1 - مقاومة جين Rx فى البطاطس لفيرس إكس البطاطس.

2 - مقاومة الفاصوليا ضد طفرات Hrp من Pseudomonas syringae.

3 - المقاومة المتخصصة ضد سلالات معينة من الفطر المسبب للبياض الدقيقى فى الشعير والتى يتحكم فيها الجين mlg.

4 - مقاومة الطماطم للفطر Cladosporium fulvum (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

إن التفاعلات التى تؤدى إلى ظهور حالة فرط الحساسية (وهى نوع من الموت المبرمج لخلايا النبات) تُسْتَحَثُ على الحدوث عندما يتعرف البروتين (الذى يُشفِر الجين R - المسئول عن المقاومة - لتكوينه) على بروتين آخر يُنتجه المسبب المرضى (يُشفِر لتكوينه الجين Avr - المسئول عن عدم الضراوة - فى الطفيل). يعرف بروتين الطفيل باسم "الحاث" أو "المثير" elicitor، ومن أمثلته: AvrBs3 الذى تنتجه البكتيريا Xanthomonas campestris pv. vesicatoria، و AvrPto الذى تنتجه البكتيريا Pseudomonas syringae pv. tomato، وهى بروتينات يتعرف ناتج الجين R داخل الخلايا النباتية عليها.

وإلى جانب جينات عدم الضراوة فإن البكتيريا تتطلب جينات hrp (وهى الخاصة باستجابة فرط الحساسية والتطفل المرضى hypersensitive response and pathogenicity) لأجل حث تفاعل فرط الحساسية فى غير العوائل والأصناف المقاومة، وأيضًا لأجل إحداث المرض فى العوائل المتوافقة.

هذا ويُشِفر أحد جينات الـ hrp لتكوين بروتين حاث لتفاعل فرط الحساسية يعرف باسم harpin، وجد فى كل من P. syringae، و Erwinia amylovora، و E. chrysanthemi، و E. carotovora، وتكون بروتينات الـ harpins النقية نشطة بيولوجيًّا ويمكنها حث تفاعل فرط الحساسية فى عديد من العوائل. وتلك الاستجابة لا تعد من التفاعلات التى تنطبق عليها نظرية الجين للجين. ومن أمثلة البروتينات الأخرى الشبيهة بالـ harpins التى أمكن عزلها البروتين PopA الذى عزل من البكتيريا Ralstonia solanacearum (عن Alarcon وآخرين 1998).

إن جميع الأنواع البكتيرية المنتجة للـ harpins أو للبروتينات الشبيهة بالـ harpins – التى أسلفنا بيانها – هى سالبة لصبغة جرام، وباكتشاف أن البكتيريا الموجبة لصبغة جرام Clavibacter michiganensis subsp. michiganesis تستحث استجابة تحلل موضعى (فرط حساسية) فى كل من نبات شب الليل Mirabilis jalapa والتبغ .. تمكن Alarcon وآخرون (1998) من عزل رائق مزارع الخلايا البكتيرى الخالى من البكتيريا (والذى كان قادرًا – مثل البكتيريا الحية – على إحداث تفاعل فرط الحساسية) .. تمكنوا من عزل مركب بروتينى له خصائص بروتينات الـ harpin، كان قادرًا على حث تفاعل فرط الحساسية فى كل من نباتى شب الليل والتبغ.

المسببات المرضية المحدثة لظاهرة فرط الحساسية

لا تقتصر حالة فرط الحساسية على فئة معينة من المسببات المرضية، وإنما تحدثها عديد من المسببات المرضية بمختلف فئاتها، كما يلى:

1 – الطفيليات الإجبارية Obligate Parasites، كما فى فطريات الأصداء والبياض الدقيقى.

2 – الطفيليات الاختيارية Facultative Parasites، كما فى الفطر P. infestans المسبب لمرض الندوة المتأخرة فى البطاطس.

3 – الرميات الاختيارية Facultative Saprophytes، كما فى فطريات Colletotrichum lindemuthianum فى الفاصوليا، و Corynespora cucumerinum فى الخيار.

4 – البكتيريا، حيث تظهر فرط الحساسية فى عديد من الحالات غير المتوافقة التى تتكون فيها بقع محلية.

5 – الفيروسات، حيث توجد فيها كذلك عديد من الحالات غير المتوافقة (عن Muller 1959).

6 – النيماتودا .. فمثلاً .. وجد أن مقاومة الفاصوليا لنيماتودا تعقد الجذور ترجع إلى حدوث تحلل Necrosis فى القمة النامية للجذر بعد أربعة أيام من اختراق اليرقة له، وهو تفاعل فرط حساسية يحدث فى الجزء المصاب فقط من الجذر، بينما تتكون الخلايا العملاقة – فى موضع الإصابة – فى الأصناف القابلة للإصابة (Fassulitotis وآخرون 1970).

أمثلة لحالات فرط الحساسية ضد مختلف مجاميع المسببات المرضة

1 – المقاومة للندوة المتأخرة فى البطاطس:

إن مقاومة الـ R genes فى البطاطس للفطر Phytopthora infestans هى من نوع فرط الحساسية الذى يحدث – فى التفاعلات غير المتوافقة – فى خلال 24 ساعة من التعرض للفطر؛ حيث تموت خلية واحدة إلى ثلاث من خلايا البشرة عند موقع الإصابة مباشرة. هذا إلاّ أنه يحدث أحيانًا أن يفلت الفطر من تفاعل فرط الحساسية البَشْرى ويغزو الخلايا المجاورة للبشرة؛ مما يترتب عليه حدوث نوع من الانتشار لحالة فرط الحساسية.

أما فى أصناف البطاطس القابلة للإصابة (فى التفاعلات المتوافقة) فإن خلايا البشرة المصابة – رغم أنها لا تموت – فإنها كثيراً ما تُظهر بعض المظاهر التى تُصاحب فرط الحساسية، مثل: ظهور السيتوبلازم المحبب الضارب إلى البنى، وحدوث زيادة فى سماكة الجدر الخلوية، والفلورة الذاتية لدى التعرض للأشعة فوق البنفسجية، وزيادة كثافة الأنوية.

ويستدل مما تقدم بيانه أن الاختلاف بين المقاومة والقابلية للإصابة بالفطر المسبب للندوة المتأخرة فى البطاطس هو اختلاف كمى، على الرغم من تواجد جينات R فى حالة المقاومة.

لقد تم تصوير التغيرات الهستولوجية السريعة التى تحدث فى أولى خلايا البطاطس التى يخترقها الفطر P. infestans .. تم تصويرها مجهريًّا بالفيديو من لحظة بداية الإصابة إلى حين موتها. أوضحت الدراسة أنه بعد محاولة الفطر اختراق الخلية مباشرة كونت الخلية - عند موقع الاختراق مباشرة - حاجزًا موضعيًّا (هو الـ papilla) بإضافة مواد إلى الجدار الخلوى، وكانت تلك العملية مصاحبة بزيادة فى الحركة الدورانية للسيتوبلازم وانتقال النواه إلى ذلك الموقع. ولقد اكتملت هجرة النواة وتراكم السيتوبلازم تحت الـ appresorium الفطرى فى خلال 2-1.5 ساعة من ظهور الفطر داخل الخلية النباتية،

وأعقب ذلك ازدياد فى تراكم المركبات المعيقة لتقدم الفطر بترسيبها حوله. ولقد استدل من اللون البنى القاتم لتلك المركبات وقدرتها على الفلورة الذاتية تحت الأشعة تحت الحمراء على وجود مركبات فينولية بها. وأعقب ذلك حدوث ترسيب للكالوز فى الطوق المغلف للـ papillae الفطرية. وبمجرد توقف تقدم النمو الفطرى اختفى التحبب السيتوبلازمى وتركت النواة مكانها عند موقع الاختراق؛ أى إن التغيرات التى حدثت لم تكن نهائية (كانت reversible). حدث ذلك كله فى التفاعلات غير المتوافقة تمامًا.

أما عندما كانت التفاعلات أكثر توافقًا، فإن الاستجابة الدفاعية الموضعية الأولى فشلت فى الحدوث، ونجح الفطر فى غزو الخلايا مكونًا حويصلات ماصة داخلية intracellular vesicles. ولقد ظهرت أولى الأعراض الدالة على التغيرات النهائية (أى الـ irreversible) التى قادت إلى موت الخلايا بحدوث تجبب للسيتوبلازم وهجرته حول الفطر، مع توقف الحركة الدورانية للسيتوبلازم، ثم حدوث انهيار مفاجئ للسيتوبلازم والنواة فى خلال 20 ثانية، تبعه انهيار فى حوصلات الفطر الماصة. وتبع ذلك اكتساب الجدر الخلوية ومحتويات الخلية الداخلية لونًا قاتمًا وأصبحت ذات قدرة على الفلورة الذاتية فى خلال ساعات قليلة.

وتجدر الإشارة إلى أن الاستجابات الدفاعية فى التفاعلات بين البطاطس والفطر P. infestans كثيرة ومتنوعة وتحدث - بدرجة متساوية - فى كل من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة على حد سواء. ويتضمن ذلك موت للخلايا من جراء فرط الحساسية، على الرغم من أن المظهر النهائى يكون مختلفًا، حيث لا تتكون سوى بقع صغيرة متحللة فى النباتات المقاومة، مقابل تكوين بقع كبيرة متحللة فى النباتات القابلة للإصابة. ولذا .. فإنه على الرغم من وجود أو غياب R gene رئيسى، فإن تفاعلات المقاومة الرئيسية تحدث فى كلتا الحالتين، ويكون مظهر المقاومة نتيجة لاختلافات كمية صغيرة فى الاستجابات الخلوية والكيميائية الحيوية. ويستدل مما تقدم بيانه أنه على الرغم من وجود علاقة واضحة بين استجابة فرط الحساسية المؤدية إلى موت الخلايا وتثبيط نمو الفطر، فإنه لا يوجد دليل يُظهر الحاجة لحدوث استجابة فرط الحساسية لكى يتم الحد من انتشار الفطر (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

فرط الحساسية فى الأمراض البكتيرية

يحدث تفاعل فرط الحساسية فى الإصابات البكتيرية - كما فى الإصابات المرضية الأخرى - بين أى عائل وأى طفيل غير متوافقين. ويعتقد أن البكتيريا تعد أكثر المسببات المرضية صلاحية لدراسات فرط الحساسية؛ نظرًا لأنه يمكن وقف نموها ونشاطها فى أى وقت عن طريق معاملة الأنسجة المحتوية على البكتيريا بالاستربتومايسين. ولا تحدث تفاعلات فرط الحساسية إذا أجريت هذه المعاملة خلال العشرين دقيقة الأولى من العدوى بالبكتيريا. أما المعاملة بالاستربتومايسين بعد 25 دقيقة من العدوى فإنه لا يفيد فى وقف تفاعل فرط الحساسية، لأن هذه التفاعلات يمكن أن تستمر بعد ذلك فى الخلايا - أى بعد أن تبدأ - دونما حاجة إلى وجود خلايا بكتيرية حية. وتستمر هذه التفاعلات لمدة 5-7 ساعات، ويعقب ذلك موت الخلايا النباتية ذاتها فى خلال ساعة أو ساعتين، ويحدث هذا الموت السريع فى الخلايا النباتية نتيجة حدوث تغير مفاجئ فى نفاذية الأغشية الخلوية (Klement & Goodman 1967).

يحدث تفاعل فرط الحساسية فى الظروف الطبيعية عند وصول أى نوع من البكتيريا إلى أنسجة نباتية غير قابلة للإصابة، ولكن المناطق المتحللة تكون صغيرة جدًّا ولا يمكن رؤيتها بالعين المجردة. أما عند دفع أعداد كبيرة من البكتيريا عنوة إلى داخل النبات – مثلما يحدث عند إجراء العدوى برشاشة تحت ضغط مرتفع، بتركيز لا يقل عن 5 × 610 خلية بكتيرية/مل من المعلق البكتيرى .. فإن المناطق التى تتحلل - بفعل تفاعل فرط الحساسية – تلتحم معًا، وتبدو واضحة للعين المجردة.

فرط الحساسية فى الأمراض الفيروسية

يأخذ تفاعل فرط الحساسية فى الإصابات الفيروسية أحد مظهرين، كما يلى:

1 - البتر أو الاستئصال Amputative Hypersensitivity:

فى هذا النوع من التفاعل يزيل العائل الفيرس بإسقاط الأوراق المصابة قبل وصول الفيرس إلى اللحاء، كما يحدث فى بعض أصناف الفلفل لدى إصابتها بفيرس موزايك التبغ.

يلاحظ أن هذا التفاعل يكون مصاحبًا بنقص فجائى فى مستوى الأوكسين فى النبات. يحدث هذا النقص عقب الإصابة بالفيرس، ويؤدى إلى سقوط الأوراق. وقد أدى رش النباتات التى يحدث فيها هذا التفاعل بالأوكسين نفثالين حامض الخليك Napthalene Acetic Acid بتركيز 100 جزء فى المليون إلى منع سقوط الأوراق، بينما لم تستجب النباتات للمعاملة بالأوكسين الطبيعى إندول حامض الخليك.

2 - موت جميع الخلايا النباتية المصابة بالفيرس Necrogenic Hypersensitivity:

يؤدى هذا النوع من التفاعل إلى وقف انتشار الفيرس فى النبات، كما يحدث عند عدوى النوع Nicotiana glutinosa بفيرس موزايك التبغ (عن Kiraly وآخرين 1974).

وكثيراً ما تُعرف حالات فرط حساسية يتحكم فيها جينات رئيسية سائدة، ويترتب عليها منع انتشار الفيرس تحت ظروف الحقل، وهى التى تعرف باسم المناعة الحقلية field immunity، علمًا بأنه قد يمكن حقن تلك النباتات بالفيرس صناعيًّا، وغالبًا ما تُظهر تحللاً قميًّا بعد عدواها بطريقة التطعيم.

وتجدر الإشارة إلى أن حالة فرط الحساسية تكون فى بعض الحالات قليلة التأثير جدًّا إلى درجة أن النباتات لا تكون مقاومة. فمثلاً تكون مقاومة البطاطس بفرط الحساسية لفيرس M البطاطس مصاحبة بانتشار شديد للفيرس تحت ظروف الحقل (عن Swiezynski 1994).

المقاومة النشطة : تكوين الفيتوألاكسينات

تعريف الفيتوألاكسينات

يقوم النبات بتمثيل مركبات معينة استجابة لأى محفز خارجى (سواء أكان كيميائيًّا، أم طبيعيًّا، أم بيولوجيًّا) بما فى ذلك مسببات الأمراض، ويطلق على تلك المركبات اسم فيتوألاكسينات Phytoalexins، وهى التى تعد الأساس فى حالات المقاومة الرأسية التى يتحكم فيها جين واحد.

وكان Muller (1956) قد أعطى الفيتوألاكسينات التعريف الأصلى على أنها "مضادات حيوية antibiotics تنتج من تفاعل نظامين حيويين - هما العائل والطفيل - وتؤدى إلى وقف نمو الكائنات الدقيقة الممرضة للنباتات"؛ أما التعريف الحديث للفيتوألاكسينات فيقرر أنها مركبات مضادة للكائنات الدقيقة، ذات وزن جزيئى منخفض، تمثل وتتراكم فى النباتات كنواتج أيضية ثانوية بعد تعرضها للكائنات الدقيقة، أو لمعاملات أو لظروف بيئية قاسية (Cruickshank 1980).

وتشتق كلمة Phytoalexin من الأصلين اليونانيين Phyton بمعنى نبات، و alexin بمعنى مركب عازل Wording off Compound.

كانت بداية اكتشاف الفيتوألاكسينات فى عام 1940 بواسطة Müller & Börger اللذان قاما بعدوى سطح مقطوع لدرنات بطاطس بسلالة عديمة الضراوة avirulent من الفطر Phytophthora infestans، وأعقب ذلك – بعد فترة – بعدوى السطح المقطوع ذاته بسلالة ممرضة virulent من نفس الفطر. ولقد أدى ذلك إلى فشل السلالة الممرضة فى إحداث الإصابة. ولقد كانت هذه المقاومة فعالة – كذلك – ضد فطريات أخرى، مثل Fusarium caeruleum؛ مما حدا بالباحثين إلى اقتراح أن مادة دفاعية (هى الفيتوألاكسين) كان لها دورًا فى هذا الأمر.

ولقد كانت الخطوة التالية هى عزل الفيتوألاكسين، واستُعمل لهذا الغرض أنصاف قرون الفاصوليا الخضراء التى أزيلت منها القرون، وكذلك أنصاف قرون مماثلة من البسلة الخضراء. وقد كللت تلك الدراسات بعزل Müller وجماعته للفيتوألاكسين: phaseollin من الفاصوليا بعد عدواها بالفطر Monilinia fructicola وذلك عام 1962، وبعزل Cruickshank وجماعته للفيتوألاكسين: pisatin من البسلة بعد عدواها بعديد من الفطريات وذلك فى عام 1963. ومنذ ذلك الوقت أمكن عزل عدة مئات من الفيتوألاكسينات، كان قرابة المائة منها من العائلة البقولية (عن 1993 Strange).

خصائص الفيتوألاكسينات

لخص Cruickshank (1963) الحقائق التى توصلوا إليها من دراسته وجماعته على الـ pisatin فيما يلى:

1 - عندما يلامس الكائن المرضى خلايا العائل فإنه يحدث بينهما تفاعل تتكون على أثره مادة - أطلق عليها اسم فيتوألاكسين - تمنع استمرار نمو الكائن المرضى فى أنسجة العائل، وهى - بمقتضى هذا التفاعل - أنسجة مفرطة الحساسية لهذا المسبب المرضى.

2 - لا يحدث هذا التفاعل إلا فى الخلايا الحية فقط، ولكنه يؤدى إلى موتها.

3 – إن المادة المتكونة نتيجة لهذا التفاعل هى مركب كيميائى، وربما تكون أحد نواتج عملية التحلل البيولوجى Necrobiosis التى تحدث لخلايا العائل.

4 - لا يكون هذا الفيتوألاكسين متخصصًا فى مفعوله السام على الفطريات، وتختلف الفطريات فى مدى حساسيتها له.

5 - يحدث نفس التفاعل فى كل من الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة، ولكنه يكون أسرع فى الأصناف المقاومة بدرجة تسمح بوصول تركيز الفيتوألاكسين إلى المستوى المطلوب للتأثير فى المسبب المرضى قبل انتشاره فى النبات.

6 - لا يحدث التفاعل إلا فى الأنسجة المصابة، والأنسجة المحيطة بها والقريبة منها فقط.

7 - إن ما يورث هو حساسية خلايا العائل التى تحدد سرعة تكوين الفيتوألاكسين.

وتتراوح الجرعة المؤثرة EC50 من الفيتوألاكسينات على الفطريات بين 10-3، و 10-5 مولار؛ وبذا فهى تعد مضادات فطرية ضعيفة نسبيًّا. ولا تتوفر أدلة على انتقال الفيتوألاكسينات فى النباتات، إلا إن سرعة تراكمها ومحدودية تكوينها عند موضع الإصابة يجعل من الممكن أن يُواجَه المسبب المرضى بتركيزات من الفيتوألاكسين تزيد كثيراً فى المراحل المبكرة من الإصابة عن الـ EC50.

الشروط التى يجب توافرها فى الفيتوألاكسين

يذكر Müller (1961) أنه لكى يمكن اعتبار المادة الناتجة من هذا التفاعل من الفيتوألاكسينات، فإن يتعين أن تتوفر فيها الشروط التالية:

1 - يجب أن يحدث التفاعل بين العائل والطفيل تحت ظروف يستبعد منها أية تأثيرات لأية كائنات دقيقة أخرى قد تكون موجودة كملوثات Contaminants.

2 - ألا يتعرض العائل أثناء إجراء الاختبار إلى أية أضرار ميكانيكية قد تؤدى إلى إنتاجه مواد أخرى مثبطة للنمو الميكروبى.

3 - يفضل أن يستعمل فى الاختبار طفيليات يمكنها النمو على البيئات المغذية العادية، حتى لا يُعَد نقص العناصر المغذية أحد العوامل التى يمكن أن تحد من نمو المسبب المرضى.

4 - ألا توجد بالعائل – قبل العدوى بالمسبب المرضى – أية مثبطات للنمو بتركيزات تكفى لوقف نموه.

5 - تجنب إجراء الاختبار بأية طريقة قد يترتب عليها حدوث تغييرات فى تركيبه الكيميائى.

6 - الالتزام بطريقة محددة لاختبار مفعول الفيتوألاكسين بعد استخلاصه.

7 - التأكد من وجود الفيتوألاكسين فى أنسجة النبات بتركيزات كافية لوقف نمو المسبب المرضى.

ومن الشروط الأخرى التى أقترحت لكى يمكن اعتبار أن للفيتوألاكسين دورًا فى عملية الدفاع النباتى ضد المسببات المرضية، ما يلى:

1 – يجب أن يتراكم المركب استجابة للإصابة.

2 - يجب أن يكون المركب مثبطًا للمسبب المرضى المهاجم للنبات.

3 - يجب أن يتراكم المركب بتركيزات مثبطة للمسبب المرضى فى الخلايا النباتية المجاورة له عند توقف نمو المسبب المرضى.

4 - يسبب التباين فى معدل تراكم الفيتوألاكسين تباينًا مماثلاً فى مستوى مقاومة النبات.

5 - يسبب التباين فى حساسية المسبب المرضى - المهاجم - للفيتوألاكسين تباينًا مماثلاً فى ضراوته (عن Strange 1993).

دور الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض

أوضحت الدراسات التى أجريت على الفيتوألاكسينات الحقائق التالية (عن Keen 1981):

1 - تكون الطفيليات القادرة على إحداث الإصابة - غالبًا - قادرة على تحمل الفيتوألاكسينات، أو إحداث تغيرات كيميائية فيها تفقدها فاعليتها، لكن الطفيليات القريبة منها التى تكون غير قادرة على إحداث الإصابة بنفس العائل لا تتحمل الفيتوألاكسينات ولا تكون لديها القدرة على تغييره كيميائيًّا.

2 - تؤدى معاملة النباتات القابلة للإصابة بأى من العوامل التى تزيد إنتاج الفيتوألاكسينات - مثل الأشعة فوق البنفسجية - قبل العدوى إلى جعلها مقاومة.

3 - يؤدى التعرض للعوامل البيئية التى تضعف قدرة النبات على إنتاج الفيتوألاكسينات - دون أن يكون لها نفس التأثير السلبى فى الطفيل - إلى إضعاف مقاومة النباتات.

4 - لا تنتج الفيتوألاكسينات بتركيزات عالية فى العوائل ذات المقاومة الرأسية إلا عندما لا يوجد توافق بين العائل والطفيل.

5 - تزداد سرعة تكوين الفيتوألاكسينات عند منافذ الإصابة فى حالات المقاومة التى يصاحبها توقف سريع لنمو الطفيل عما فى الحالات التى تبطئ فقط من نمو الطفيل وتقدمه.

6 - يصل تركيز الفيتوألاكسين إلى المستوى السام للمسبب المرضى فى الوقت والمواقع التى يتوقف فيها نمو وتطور سلالات الطفيل غير المتوافقة.

7 - تؤدى العدوى المزدوجة بسلالة متوافقة وأخرى غير متوافقة من المسبب المرضى إلى وقف نمو كليهما، ويكون ذلك مصاحبًا بتركيزات عالية من الفيتوألاكسين المنتج.

8 - تؤدى المعاملة بالفيتوألاكسينات النقية فى منافذ الإصابة عند العدوى بسلالة متوافقة من المسبب المرضى إلى جعلها غير متوافقة، كما تؤدى زيادة الكمية المضافة إلى زيادة حالة عدم التوافق.

9 - أحيانًا .. تؤدى المعاملة بالسموم المحدثة للأمراض - والمستخلصة من المسببات المرضية - إلى إحداث نفس التفاعلات المؤدية إلى إنتاج الفيتوألاكسينات مثل المسببات المرضية ذاتها.

ونظرًا لأهمية الدور الذى تلعبه الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض، فإننا نلقى عليه مزيدًا من الضوء فيما يلى:

1 – تُنتج الفيتوألاكسينات فى كل من الأصناف المقاومة وتلك القابلة للإصابة، ولكن بقدر أكبر فى الأصناف المقاومة (جدول 7-2).

2 – تزداد سرعة تكوين الفيتوألاكسينات فى الأصناف المقاومة عما فى الأصناف القابلة للإصابة:

يُنتج فول الصويا الفيتوألاكسين glyceollin لدى تعرضه للعدوى بالفطر Phytophthora megasperma f. sp. glycinea، وقد تبين أن الأصناف المقاومة للفطر يتراكم فيها الفيتوألاكسين بتركيزات بلغت EC90 فى موقع الإصابة، و EC50 فى الخلايا المجاورة لموقع الإصابة مباشرة، وذلك فى خلال 8 ساعات من العدوى بالفطر، وازداد التركيز عن ذلك فى خلال الساعتين التاليتين. وبالمقارنة .. فلم يتراكم الـ gyceollin بتركيزات تذكر فى صنف قابل للإصابة خلال تلك الفترة. وقد حدث تثبيط لتطور الفطر فى الصنف المقاوم عندما ازداد تركيز الـ gyceollin إلى المستوى اللازم لذلك على أساس قيم الـ EC. وعلى الرغم من ذلك فإن تركيز الـ gyceollin ازداد فى خلال 24 ساعة من العدوى فى الصنف القابل للإصابة إلى مستوى أعلى من EC90، وخاصة فى طبقات الأنسجة القريبة من موقع الإصابة، وهذا دليل على أن التأخير فى تراكم الفيتوألاكسينات لم يكن فعّالاً فى تثبيط النمو الفطرى، وأن الـ gyceollin الموجود فى النسيج التالى - مباشرة - للغزل الفطرى المتقدم هو الذى يؤثر فى الحد من تطور ونمو الفطر. هذا .. إلاّ أن استمرار نمو الفطر فى الأنسجة القابلة للإصابة التى ارتفع فيها تركيز الفيتوألاكسينات إلى EC90 يثير عديد من الأسئلة حول مدى فاعلية الفيتوألاكسين المنتج فى مقاومة الفطر (عن Kuĉ 1995).

جدول (7-2): تمثيل الفيتوألاكسينات فى نباتات فول صويا تمت عدواها بسلالات مختلفة من الفطر Phytophthora megasperma var. sojae (عن Vidhyasekaran 1988).

الصنف	سلالة الفطر	الاستجابة المنظورة للنباتات	تركيز الفيتوألاكسين PAk (ميكروجرام/جم)	تركيز الفيتوألاكسين هيدروكسى فاصيولّين hydroxyphaseollin (ميكروجرام/جم)
Harosoy	1	S	180	190
	2	S	200	360
	3	S	200	300
	4	S	170	190
Harosoy 63	1	R	1100	540
	2	R	1000	730
	3	S	250	280
	4	S	160	140
D60-9647	1	R	1100	610
	2	S	160	140
	3	R	680	440
	4	R	370	480
Semmes	1	R	790	590
	2	R	770	680

	3	R	900	500
	4	S	110	130

ونقدم فى جدول (7-3) مثالاً لآخر يوضح السرعة التى تتكون بها الفيتوألاكسينات فى الأصناف المقاومة مقارنة بالأصناف القابلة للإصابة (عن Vidhyasekaran 1988).

جدول (7-3): سرعة تراكم الفيتوألاكسينين: أفينالومين1 avenalumin I، وأفينالومين 2 فى الأوراق الأولية لأصناف الشوفان المقاومة والقابلة للإصابة بالفطر Puccinia coronata avenae race 203.

أصناف وسلالات الشوفان	الوقت الذى يستغرقه وقف النمو الفطرى (ساعة)	تراكم الـ Avenalumins I & II (ميكروجرام/جم وزن طازج) بعد الوقت المبين (بالساعة) من العدوى بالفطر				
		24	36	48	72	96
أصناف عالية المقاومة						
14	36	22	83	198	238	363
50	36	25	90	190	278	347
أصناف متوسطة المقاومة:						
38	72	آثار	آثار	21	113	156
39	72	آثار	15	26	95	156
35	96	آثار	آثار	آثار	18	125
55	96	آثار	آثار	آثار	45	53
54	96	آثار	آثار	آثار	31	48

أصناف قابلة للإصابة:						
45	--	آثار	آثار	آثار	آثار	آثار
Shokan 1	--	آثار	آثار	آثار	آثار	آثار

3 - يكون إنتاج الفيتوألاكسينات فى الخلايا المصابة ذاتها:

تأكد إنتاج الفيتوألاكسينات - فى الحالات غير المتوافقة - فى الخلايا المصابة ذاتها، وذلك بالاعتماد على تقنيات خاصة، كما يلى:

أ - ينتج الشوفان فيتوألاكسينات ذات طبيعة فينولية، هى الـ avenalumins فى التفاعلات غير المتوافقة، وبالاعتماد على خاصية امتصاص تلك الفيتوألاكسينات للأشعة فوق البنفسجية وعلى ما لها من autofluoresence spectra، وباستعمال الـ microspectrophotometry أمكن اكتشاف فلورة fluorescence كثيفة فى الخلايا المتواجدة مباشرة فى موقع الإصابة.

ب - فى دراسة مماثلة على تفاعل الفاصوليا مع الفطر Botrytis cinerea تراكم الفيتوألاكسينين: wyerone، و wyerone acid فى الخلايا المتحللة فى موقع الإصابة، وكذلك فى الفجوات العصارية بالخلايا المجاورة لها غير المصابة.

جـ - فى التفاعلات غير المتوافقة بين القطن والبكتيريا Xanthomonas campestris pv. malvacearum أمكن بالاعتماد على الـ fluorescence microscopy إظهار أن تراكم الفيتوألاكسينات (وهى sesquiterpenoid عطرية) يحدث فى الخلايا عند موقع الإصابة ذاته.

د - فى التفاعلات غير المتوافقة بين فول الصويا والنيماتودا Heterodera glycines أمكن بالاعتماد على اختبار مناعى (radioimmunoassy) خاص بالفيتوألاكسين glyceolin I إظهار أنه لم يتراكم سوى فى الخلايا المجاورة لرأس النيماتودا (عن Nicholson & Hammerschmidt 1992).

4 – تتفاعل المسببات المرضية غير المتوافقة مع العائل بطريقة تؤدى إلى إنتاج الفيتوألاكسينات بتركيزات تزيد عما تؤدى إليه الكائنات الممرضة المتوافقة؛ فمثلاً يتسبب الفطر Fusarium solani f. sp. phaseoli – وهو ليس ممرضًا للبسلة – فى إنتاج الفيتوألاكسين: pisatin فى البسلة بتركيزات تزيد عما يؤدى إليه الفطر F. solani f. sp. pisi الذى يُعد ممرضًا للبسلة.

5 – تتحلل الفيتوألاكسينات بفعل كلا من الفطريات الممرضة وغير الممرضة، ولكن تحللها يكون بسرعة أكبر بواسطة الفطريات الممرضة.

ومن الأمثلة على ذلك أن الفطر Botrytis fabae يصيب الفول الرومى محدثًا بأوراقه بقعًا متحللة تزداد فى المساحة وتلتحم معًا إلى أن تغطى الورقة بأكملها، هذا بينما تقتصر الأعراض التى يُحدثها الفطر Botrytis cinerea على ظهور بقع صغيرة محدودة العدد والمساحة. ولقد تبين أن الفول الرومى ينتج فيتوألاكسين يعرف باسم wyerone، وأن هذا الفيتوألاكسين يتراكم بتركيزات سامة للفطريات بعد الإصابة بالفطر B. cinerea، ولكن ليس بعد الإصابة بالفطر B. fabae. وقد وجد أنه لدى عدوى أوراق الفول بكل من الفطرين أن الفيتوألاكسين تراكم فى موقع البقع دون أن يتراكم فى الحلقة المحيطة بها فى حالة العدوى بالفطر B. cinerea، بينما حدث العكس فى حالة العدوى بالفطر B. fabae. وقد اقترح فى تفسير ذلك أن ميسيليوم الفطر B. fabae ربما يقوم بتحويل الفيتوألاكسين إلى صورة غير سامة للفطر (عن Vidhyasekaran 1988).

6 - تتباين مسببات الأمراض فى حساسيتها للفيتوألاكسين الواحد:

تعرف من الفطر Gibberella pulicaris سلالات حساسة للفيتوألاكسين rishitin وأخرى غير حساسة. ولقد وجد أن إحدى سلالات الفطر غير الحساسة (المتحملة) للـ rishitin يمكنها تحليل الفيتوألاكسين إلى: 13-hydroxyrishitin، و 11,12-epoxyrishitin. كما تبين أن المركب الأخير لم يكن له تأثير على إحدى سلالات الفطر الحساسة للفيتوألاكسين (Gardner وآخرون 1994).

7 - تعد الكائنات غير الممرضة nonpathogens أكثر حساسية للفيتوألاكسينات:

تبينت تلك الحقيقة من الدراسات المبكرة التى أجريت على إنتاج الفيتوألاكسين pisatin؛ حيث ظهر أن الفطريات غير الممرضة للبسلة كانت شديدة الحساسية للبيزاتين، بينما لم تكن الكائنات الممرضة للبسلة حساسة له؛ فمثلاً كانت قيم الـ ED50 (الجرعة الفعالة effective dose بنسبة 50%) - عادة - أقل من 50 ميكروجرام بيزاتين لكل ملليلتر بالنسبة لكل من الفطريات غير الممرضة للبسلة Alternaria solani، و Botrytis allii، و Colletotrichum lindemuthianum، بينما كانت تلك القيم أعلى من 100 ميكروجرام بيزاتين لكل ملليلتر بالنسبة للفطريات الممرضة للبسلة Ascochyta pisi، و Mycosphaerella pinodes.

كذلك وجد لدى مقارنة حساسية عدة عزلات من كل من الفطرين Verticillium albo-atrum، و V. dahliae من البرسيم الحجازى، ودوار الشمس، والبسلة، والطماطم، والبطاطس، والأقحوان، وحشيشة الدينار، والنعناع الفلفلى أن عزلات البرسيم الحجازى فقط كانت هى الأقل حساسية لفيتوألاكسينات البرسيم الحجازى، كما يلى:

سلالات	إنبات الجراثيم (%) بعد معاملتها
الـ Verticillium	بفيتوألاكسينات البرسيم الحجازى
● V. albo-atrum	
من البرسيم الحجازى	85.9
من الطماطم	22.7
من البطاطس	29.3
من الأقحوان	29.6
من حشيشة الدينار	26.0

● V. dahliae	
من البرسيم الحجازى	52.9
من دوار الشمس	29.6
من البسلة	40.0
من النعناع الفلفلى	29.0

كذلك وجد أن إنبات جراثيم Celletotrichum lindemuthianum الذى يصيب الفاصوليا يُثَّبط عند تركيزات منخفضة من كل من الفيتوألاكسينات الأربعة للفاصوليا (الـ phaseollin، والـ phaseollidin، والـ phaseollinisoflavan، والـ kievitone)، بينما لم تتأثر فطريات أخرى ليست من المسببات المرضية للفاصوليا (مثل Alternaria brassicicola، و Aspergillus niger، و Botrytis cinerea) بتركيزات عالية كثيراً من تلك الفيتوألاكسينات (جدول 7-4).

8 – تتأقلم الفطريات الممرضة - سريعًا - على الفيتوألاكسينات التى تنتجها النباتات:

يعد هذا التأقلم السريع على الفيتوألاكسينات – من قبل الكائنات الممرضة – ضروريًّا لأجل أن تصبح تلك الكائنات قادرة على إفقاد الفيتوألاكسينات لسميتها عندما تُنتج بتركيزات عالية.

9 – تُنتج الفيتوألاكسينات فى تفاعلات المقاومة فى المواقع المناسبة وبالتركيزات المناسبة وفى التوقيت المناسب.

تعد تلك الأمور ضرورية لكى تظهر المقاومة، وهى تفاعلات تحدث فى كل حالات المقاومة.

وعلى الرغم من كثرة الحالات التى أُرجعت فيها المقاومة إلى إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات، فإن حالات أخرى كثيرة - لا تقل عددًا - لم تلعب فيها الفيتوألاكسينات أى دور فى المقاومة (عن Vidhyasekaran 1988).

جدول (7-4): سمية فيتوألاكسينات الفاصوليا لبعض الفطريات الممرضة أو غير الممرضة للفاصوليا.

	التركيز الأدنى القاتل (ميكروجرام/مل) من مختلف الفيتوألاكسينات			
	Phaseollin	**Phaseollidin**	**Phaseollinisoflavan**	**Kievitone**
الفطر				
فطريات غير ممرضة للفاصوليا				
Alternaria brassicicola	**400 <**	**400 <**	**400**	**400**
Botrytis cinerea	**400 <**	**200**	**400**	**200**
Colletotrichum lagenarum	**10**	**4**	**10**	**20**
Glomerella cingulata	**400**	**400**	**400**	**200**
Septoria nodorum	**100**	**200**	**100**	**200**
فطريات ممرضة للفاصوليا				
Colletotrichum lindemethianum	**4**	**2**	**4**	**20**
فطريات رمية				
Aspergillus niger	**400 <**	**400 <**	**400**	**400**

الكائنات والعوامل والمعاملات المحفزة لإنتاج الفيتوألاكسينات:

إن تمثيل الفيتوألاكسينات وتراكمها فى النسيج النباتى لا يتطلب تواجد محدد لفطريات، أو بكتيريا، أو فيروسات خاصة، أو نواتج أيضية ميكروبية، أو أى مستحثات بذاتها؛ ذلك أن إنتاج الفيتوألاكسين الواحد يمكن أن يُستحث فى النوع النباتى الواحد بفعل أى من المسببات المرضية أو العوامل السابقة منفردة، فضلاً عن النيماتودا. إن قائمة المركبات التى يمكنها حث تراكم الفيتوألاكسينات تعد طويلة ومتنوعة، وتتضمن الأملاح العضوية، والـ **oligoglucans**، والإثيلين، والأحماض الدهنية، والـ **chitosan oligomers**، والبوليببتيدات، ولقد وجد أكثر من 200 عامل، كان منها مركبات كيميائية، وعديد من الكائنات الدقيقة، ومختلف ظروف الشدِّ الفسيولوجى التى أمكنها حث تراكم الـ **pisatin** فى البسلة، والـ **phaseollin** والـ **kievitone** فى الفاصوليا الخضراء، والـ **glyceollins** فى فول الصويا. كذلك فإن المركبات النباتية التى تنطلق أثر الأضرار الميكانيكية أو الإصابات المرضية يمكن أن تصبح مستحثات لإنتاج الفيتوألاكسينات. وليس هذا فقط، بل أن بعض المبيدات الفطرية، والحرارة المنخفضة، والأشعة فوق البنفسجية تعد من مستحثات إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات، فضلاً عن أن بعض المستحثات تعد مضادات فطرية عند التركيزات التى تستحث إنتاج الفيتوألاكسين.

وبناء على ما تقدم بيانه فإن العامل المحدد لتمثيل الفيتوألاكسين وتراكمه فى النبات هو – فى الغالب – الاضطراب الأيضى، وليس التركيب المعين للعامل الحاث، إلاّ فيما يتعلق بما يسببه ذلك التركيب من اضطراب أيضى، ولا يستبعد ذلك أهمية المركبات التى تطلقها الكائنات الدقيقة والنباتات أثناء الإصابة كمستحثات لإنتاج المركبات الدفاعية.

وبطريقة ما فإن أى عامل من هذا العدد الكبير من العوامل (الحية وغير الحية) التى يمكنها أن تستحث إنتاج الفيتوألاكسينات تسبب اضطرابًا أيضيًّا يترجم كيميائيًّا كعلامة أو علامات خطر، يترتب عليها بدء سلسلة من الأحداث المتعاقبة تقود – ضمن ما تقود – إلى التمثيل الموضعى للفيتوألاكسين وتراكمه. ويمكن لتلك السلسلة من الأحداث أن تتضمن زيادة فى نشاط وتنظيم عمل ما قد يصل إلى 20 جينًا لأجل تمثيل الفيتوألاكسين. يحدث هذا التوجيه والتنظيم لعمل الجينات وسط حالة من الفوضى الخلوية الظاهرة، التى قد تبدو كتغيرات غير مترابطة، ولكنها تكون فى الواقع منظمة بهدف العودة إلى الحالة الطبيعية لأجل البقاء (عن Kuĉ 1995).

المستحثات

تحتوى غالبية الجدر الخلوية للهيفات الفطرية والخلايا البكتيرية على نوعين من الجليكوبروتينات، تعرف إحداها بالمستحثات elicitors - وهى التى تستحث إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات، وخاصة فى التفاعلات الممرضة غير المتوافقة - وتعرف الأخرى باسم المعيقة أو المانعة suppressors، وهى التى تعيق إنتاج وتراكم الفيتوألاكسينات، وخاصة فى التفاعلات المرضية المتوافقة. وبينما تكون المستحثات - غالبًا - مواد ذات وزن جزيئى مرتفع، فإن المانعات تكون – غالبًا – ذا وزن جزيئى منخفض. يتم تمثيل المانعات – غالبًا – فى الجدار الخلوى لأنبوبة الإنبات ذاتها أثناء تقدمها.

هذا .. وتقوم كلا من الكائنات الممرضة المتوافقة مع العائل وغير المتوافقة معه بإنتاج كلا النوعين من الجليكوبروتينات: المستحثات والمانعات، إلا أن المستحثات الخاصة التى تنتجها الكائنات غير المتوافقة غير الممرضة قد تستحث إنتاج كميات أكبر من الفيتوألاكسينات، كما أنه قد لا توجد أى اختلافات كمية بين المانعات التى تنتجها الكائنات الممرضة والكائنات غير الممرضة nonpathogens فى عائل معين، إلا أنه توجد بينهما اختلافات نوعية.

وقد ترتبط المستحثات بموقع خاص لمستقبل receptor فى الجدر الخلوية للعائل؛ لتستحث إنتاج الفيتوألاكسينات. وفى المقابل فإن المانعات قد تنافس المستحثات فى شغل المستقبلات؛ لتمنع بذلك استقبالها للمستحثات؛ ومن ثم إنتاج الفيتوألاكسينات. وتعد حالة المقاومة محصلة للتفاعل الذى يحدث بين المستحثات، والمانعات، والمستقبلات.

إن المستحثات قد تكون غير متخصصة nonspecific؛ فلا تكون خاصة بسلالة معينة من المسبب المرضى ولا بعائل معين. ومن أمثلة ذلك إنتاج سلالتين من الفطر Cladosporium fulvum – الذى يصيب الطماطم – مستحثات لإنتاج الـ rishitin فى الطماطم والـ pisatin فى البسلة، والـ glyceollin فى فول الصويا، ولكنها لا تستحث إنتاج الـ rishitin فى البطاطس. كذلك قد تكون المستحثات متخصصة specific؛ فلا تنتج إلا فى تفاعلات معينة غير متوافقة، كما فى حالات التفاعل بين سلالات معينة من Cladosporium fulvum وأصناف الطماطم (Vidhyasekaran 1988).

أمثلة متنوعة

نقدم – فيما يلى – بيانًا ببعض الكائنات والعوامل والمعاملات المحفزة لإنتاج الفيتوألاكسينات.

1 – الفطريات:

إن معظم معلوماتنا عن الفيتوألاكسينات حُصِل عليها من دراسات استخدمت فيها الفطريات لتحفيز إنتاج الفيتوألاكسينات. ولا يشترط لإنتاج الفيتوألاكسينات أن تكون الفطريات المستخدمة فى العدوى من بين الطفيليات الطبيعية للعائل، فقد وجد Cruickshank (1965) أن البسلة تنتج الفيتوألاكسين بيزاتين Pisatin لدى عدوى قرونها بأى واحد من عدد كبير من الفطريات سواء أكانت من بين الطفيليات الطبيعية للبسلة، أم غير ذلك، إلا أن تركيز البيزاتين المنتج اختلف من فطر لآخر. كذلك اختلفت الفطريات المستخدمة فى مدى حساسيتها للبيزاتين، وأمكن تقسيمها إلى مجموعتين: حساسة للبيزاتين، وتشمل كل الطفيليات الطبيعية للبسلة، وغير حساسة وتشمل كل الفطريات الأخرى التى شملها الاختبار وهى ليست من الطفيليات الطبيعية للبسلة.

وفى العائل الواحد .. ينتج عادة نفس الفيتوألاكسين وإن تعددت جينات المقاومة الرأسية ما دامت سلالات الفطر المستخدمة غير متوافقة مع جين المقاومة الرأسية؛ ففى البطاطس .. تمكن Sato وآخرون (1968) من عزل الفيتوألاكسين Rishitin من درنات الأصناف ذات التركيب الوراثى r، و R1، و R2، و R3، و R4 لدى عدوى أى منها بسلالة غير متوافقة من الفطر Phytopthora infestans.

2 – البكتيريا:

لم يعرف دور الفيتوألاكسينات فى مقاومة الأمراض البكتيرية إلا فى عام 1971 حينما أمكن عزل كميات كبيرة نسبيًّا من الفيتوألاكسين فاصيولين Phaseollin من أوراق أصناف الفاصوليا (226 ميكروجرامًا/جم من الأوراق) المفرطة الحساسية للبكتيريا Pseudomonas phaseolicola لدى عدواها بتلك البكتيريا. كما أمكن عزل فيتوألاكسينات أخرى من الفاصوليا - بنفس البكتيريا - وهى: Phaseollidin، و Phaseollinisoflavan، و Kievitone، و Coumestrol.

وقد عـزلت بعد ذلك فيتـوألاكسينات أخرى فى حالات مرضية بكتيرية أخرى، فمثلاً .. وجد أن البكتيريا Pseudomonas glycinea تحفز تكوين الفيتوألاكسينات التالية فى فول الصويا: glyceollin، و coumestrol، و daidzein، و sojagol. وفى البطاطس .. عزلت الفيتوألاكسينات Rishitin، و Phytuberin بتركيزات عالية نسبيًّا من درنات البطاطس (100-1000 ميكروجرام/جم من النسيج المعدى) لدى عدواها بالبكتيريا Erwinia atroseptica. كما عزلت نفس هذه الفيتوألاكسينات – مع غيرها – لدى عدوى الدرنات بالبكتيريا E. carotovora. كذلك عزل الفيتوألاكسين Cspsidiol من أوراق الفلفل لدى عدواها بالبكتيريا E. carotovora.

3 - الفيروسات:

أمكن فى عام 1972 عزل عدد من الفيتوألاكسينات من الفاصوليا الخضراء لدى عدواها بفيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus، وهى: Phaseollin، و Phaseollidin، و Phaseollinisofhavan، و Kievitone.

وقد تبين بعد ذلك أن البقع المحلية التى تتكون فى بعض حالات الإصابات الفيروسية تعد مواقع ممتازة لعزل الفيتوألاكسينات، حيث عزلت الفيتوألاكسينات من الحالات المرضية الفيروسية التالية:

العائل	الفيروسات	الفيتوألاكسينات المنتجة
الفاصوليا	فيرس تحلل التبغ	Phaseollinisoflavan, Kievitone
Vigna spp.	متنوعة	Phaseollin, Phaseollidin, Kievitone, 2-o-methylphaseollidinisoflavan, Vignafuran
البسلة	متنوعة	Pisatin
N. tabacum	فيرس تحلل التبغ	Capsidiol, Solascone, Phytuberin, Phytuberol, 3-hydroxysolavetivone

4 – النيماتودا:

أمكن عزل الفيتوألاكسينات من الحالات المرضية النيماتودية التالية:

العائل	النيماتودا	الفيتوألاكسينات المنتجة
البطاطا	Cylas formicarius	Ipomeamarone
	أو Euscepes postfasciatus	
		Ipomeamarol
		Dehydroipomeamarone
فاصوليا الليما	Pratylenchus scribneri	Coumestans
الفاصوليا الخضراء	P. penetrans	Phaseollin
فول الصويا	Meloidogyne incognita	Glyceollin

وفى جميع الحالات .. كان تركيز الفيتوألاكسينات أعلى فى الأنسجة المتحللة (عن Bailey 1982).

5 - المركبات الكيميائية:

تبين أن عديدًا من المركبات الكيميائية تعمل كمنبهات لإنتاج الفيتوألاكسينات لدى معاملة النباتات بها، ومن هذه المركبات، ما يلى:

فئة المركبات	أمثلة للمركبات
مثبطات التنفس	**Sodium iodoacetate**
	Sodium fluoride
	Potassium cyanide
	2,4-dinitrophenol
مضادات الحيوية	**Actinomycin D**
	Puromycin
	Cycloheximide
منظمات النمو	**Ethylene**
	Indole acetic acid
	2,4-D
	2,4-5-trichlorophenoxyacetic acid

وتعرف مركبات كيميائية أخرى عديدة، ولكن تأثيرها المحفز لإنتاج الفيتوألاكسينات لم يدرس إلا فى البسلة، ومن أمثلتها: أملاح المعادن الثقيلة كالنحاس، والزئبق.

6 - نواتج الأيض الميكروبى Microbial Metabolites:

تبين أن راشح المزارع الميكروبية، وكذلك الخلايا الفطرية المقتولة بالحرارة كانت قادرة على تحفيز إنتاج الفيتوألاكسينات مثل الكائنات الحية المأخوذة عنها تمامًا. ومن أهم نواتج الأيض الميكروبى التى وجدت فيها وكانت مؤثرة فى إنتاج الفيتوألاكسينات كل من:الـ Peptides، والـ Glycopeptides، والـ Polysaccharides.

7 - المعاملات الفسيولوجية:

حفَّز تجريح الأنسجة النباتية بالقطع، أو بالخدش، أو بالوخز بالإبر إنتاج الفيتوألاكسينات، ولكن بتركيزات منخفضة جدًّا. كما أُنتجت الفيتوألاكسينات بتعريض الأنسجة لدرجة -20ْم لمدة 10-20 دقيقة، أو بجعلها تلامس النيتروجين السائل ثم تفكيكها. وكانت أكثر المعاملات تأثيرًا فى إنتاج الفيتوألاكسينات هى التعريض للأشعة فوق البنفسجية (Bailey 1982).

طرق إنتاج الفيتوألاكسينات

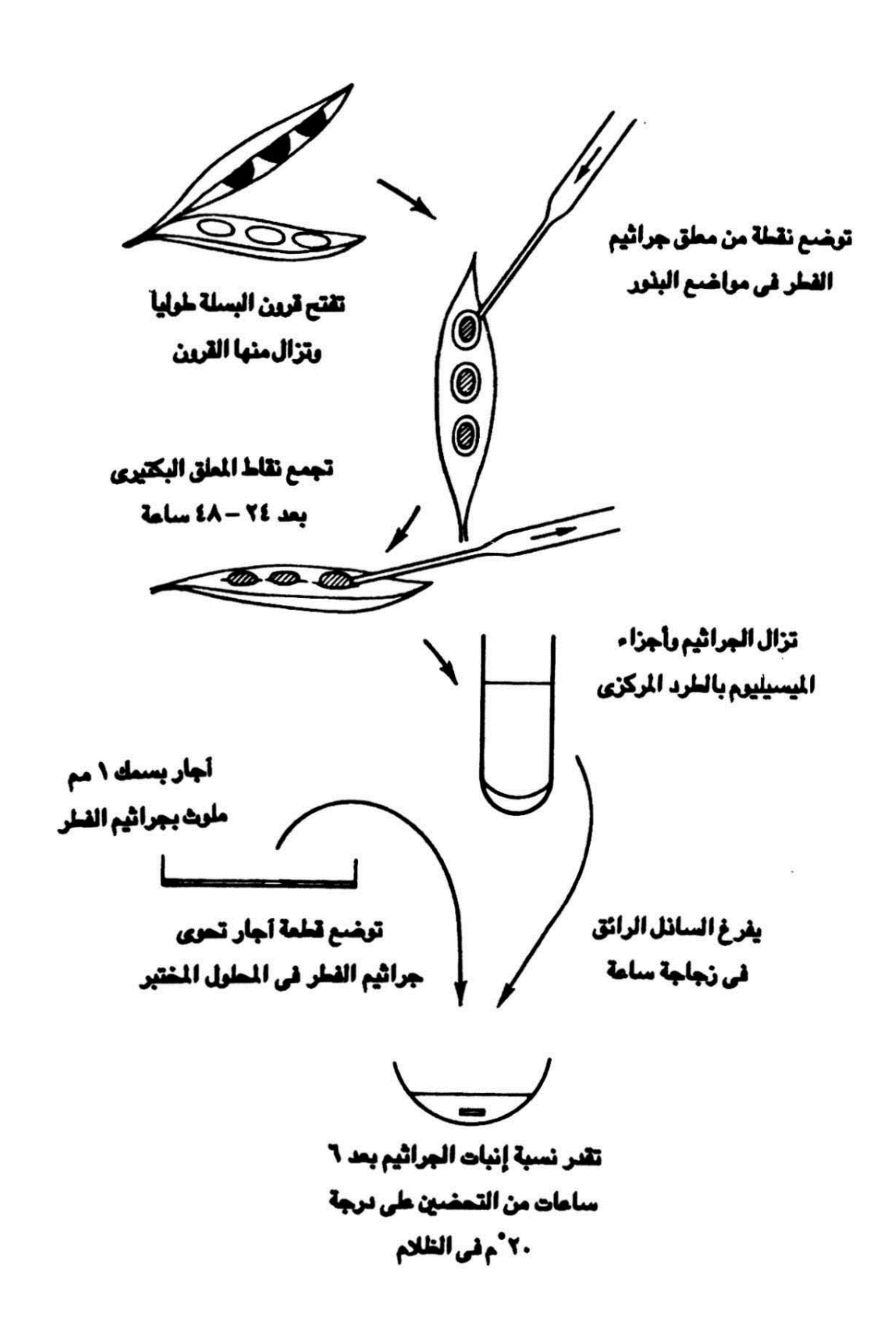
اتبعت عدة طرق لإنتاج الفيتوألاكسينات فى الأنسجة النباتية عقب عدواها بالمسببات المرضية، نذكر منها ما يلى:

1 - رش الأوراق والسيقان بمعلق المسبب المرضى بعد إزالة الطبقة الشمعية عنها.

2 - عدوى الأسطح المقطوعة للنسيج النباتى المتشحم كالدرنات.

3 - عدوى مواضع البذور - بعد إزالتها - من أنصاف قرون البقوليات.

تعرف هذه الطريقة باسم **drop-diffusate method**، وفيها تُزال البذور من القرون الخضراء للبقوليات بعد تفصيصها، ثم يضاف المعلق الفطرى أو البكتيرى .. إلخ فى تجويف البذور، وتحفظ أنصاف القرون المعاملة بهذه الطريقة فى مكان محكم مغلق ترتفع فيه نسبة الرطوبة. تُنتج بعد ساعات قليلة الفيتوألاكسينات فى خلايا العائل، لتنتشر منها إلى السائل الموجود فى تجويف البذور، حيث يمكن استخلاصها بسهولة (شكل 7-22).



شكل (7-22): طريقة أنصاف قرون البقوليات لإنتاج الفيتوألاكسينات.

وقد كان Muller هو أول من استخدم أنصاف قرون البسلة المفرغة من البذور فى إنتاج الفيتوألاكسينات، حيث قام بوضع نقاط من معلقات لجراثيم فطرية غير ممرضة للبسلة (استعمل ابتداء الفطرين Monolinia fructicola، و Phytophthora infestans)، فى مواضع البذور، وتبين بعد فحص تلك المعلقات على فترات زمنية أنها احتوت بعد أقل من 8 ساعات على 20°م على مركبات سامة للفطريات، وأن تلك المركبات لم تظهر فى القرون التى عوملت بالماء فقط، وكانت تلك المركبات هى الفيتوألاكسينات (عن Kuć 1995).

اتبعت هذه الطريقة فى إنتاج الـ Pisatin من البسلة، والـ Viciatin من الفول الرومى، والـ Phaseollin من الفاصوليا. ويتراوح - عادة - تركيز الفيتوألاكسينات فى السائل الموجود فى فجوات البذور بين 10 و 200 ميكروجرام/مل (عن Bailey 1982). ولمزيد من التفاصيل عن هذه الطريقة لإنتاج الفيتوألاكسينات .. يراجع Kiraly وآخرون (1974).

كذلك يمكن حقن القرون الخضراء – وهى على النبات – فى تجاويف البذور بمعلق المسبب المرضى، وقد اتبعت هذه الطريقة فى إنتاج الـ Pisatin بعد الحقن بمعلق الفطر Monilinia fructicola.

4 - اقترح Kuć (1972) استخدام أنصاف ثمار الأفوكادو والقاوون فى إنتاج كميات كبيرة من الفيتوألاكسينات بطريقة مماثلة لطريقة أنصاف قرون البقوليات. وقد اتبعت هذه الطريقة بالفعل فى إنتاج الفيتوألاكسينات من ثمار السترون المقاوم للفطر المسبب للذبول الفيوزارى (1976 Helal).

5 – استخدام مزارع الأنسجة:

يمكن استخدام مزارع الأنسجة النباتية فى إنتاج الفيتوألاكسينات بعد عدواها بالمسببات المرضية. وللتفاصيل الخاصة بهذه الطريقة .. يراجع Dixon (1980).

هذا .. ويمكن فصل الفيتوألاكسينات بسهولة بطرق الفصل الكروماتوجرافى، ويستخدم لذلك الكروما تواجرافى الورقى. وقد اتبعت هذه الطريقة لفصل كل من الـ Pisatin (Cruickshank 1965)، والـ Rishitin (Tomiyama وآخرون 1968).

كما يتم الفصل أيضًا باختبار الـ thin layer chromatography، وفيه توضع المستخلصات النباتية على الشريحة الزجاجية المعدة للفصل الكروماتوجرافى، وبعد عمل الكروماتوجرام chromatogram (أى انفصال مكونات المستخلص على الشريحة) فإنه يرش بجراثيم أحد الفطريات المناسبة وهى معلقة فى محلول مغذ. يترك الكروماتوجرام بعد ذلك فى حضّان ذى رطوبة مرتفعة لعدة أيام، حيث ينمو الفطر على كل الشريحة فيما عدا فى المناطق التى توجد بها الفيتوألاكسينات (Wain 1977).

العوامل المؤثرة فى إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات

يتأثر إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات بعديد من العوامل. وقد أجريت الدراسات فى هذا الشأن على إنتاج الفيتوألاكسين Pisatin من البسلة بطريقة عدوى تجويف البذور فى أنصاف القرون، ووجد أنه يتأثر بالعوامل التالية:

1 - الحالة الفسيولوجية للقرون، ولجراثيم الفطر المستخدم فى العدوى، وكان ذلك مرتبطًا أيضًا بدرجة ظهور المرض.

2 – مدة تخزين القرون قبل إجراء الاختبار، ودرجة الحرارة التى خزنت عليها القرون آنذاك، وما إذا كان التخزين قد أجرى فى أوعية مغلقة، أم مهواة.

3 – درجة نضج القرون المستخدمة فى الاختبار، حيث العلاقة عكسية بين درجة النضج وإنتاج الـ Pisatin.

4 – درجة الحرارة أثناء إجراء الاختبار، حيث يبلغ إنتاج الـ Pisatin أقصاه فى حرارة 15-20°م، وينخفض إنتاجه تدريجيًّا كلما اقتربت الحرارة من الدرجتين الصغرى والعظمى لإنتاجه، وهما صفر، و35°م على التوالى.

5 – لا يتكون الـ Pisatin فى غياب الأكسجين بعد العدوى. ويمكن القول إن التهوية بعد العدوى تؤثر فى العمليات الحيوية فى كل من العائل والطفيل. ونظرًا لأن بعض المسببات المرضية قد يمكنها تحمل نقص الأكسجين بدرجة أكبر من النباتات الراقية؛ لذا .. فإن سوء التهوية قد يكون له تأثير سلبى كبير فى المقاومة، وهو ما يلاحظ عند ارتفاع منسوب الماء الأرضى؛ حيث تزداد الإصابة ببعض الأمراض.

6 – توجد علاقة طردية موجبة بين إنتاج الـ Pisatin وتركيز معلق جراثيم الفطر المستخدم فى العدوى، سواء أكان الفطر من طفيليات البسلة الطبيعية، أم غير ذلك.

أنواع الفيتوألاكسينات التى تنتجها النباتات

يعتقد Keen (1981) أن إنتاج الفيتوألاكسينات ظاهرة عامة فى جميع النباتات، ويرجع عدم اكتشافها فى بعض الأمراض إلى أن الطرق المعروفة لإنتاج واستخلاص الفيتوألاكسينات ليست صالحة لكل الحالات المرضية.

وقد أنتجت الفيتوألاكسينات بالفعل من 100 نوع نباتى على الأقل تمثل 21 عائلة. ومن أمثلة النباتات التى عزلت منها الفيتوألاكسينات: الفاصوليا، واللوبيا، وفاصوليا الليما، وفول الصويا، والفول الرومى، والبسلة، والتبغ، والبطاطس، والفلفل، والبنجر، والقطن، والجزر، والبطاطا.

وتنتمى الفيتوألاكسينات إلى مجموعات كيميائية كثيرة وشديدة التباين، ويظهر التركيب الكيميائى لعدد منها فى شكل (7-23).

شكل (7-23) مستمر.

شكل (7-23): التركيب الكيميائى لعدد من الفيتوألاكسينات، وهى: كما يلى:

(a)	**Phaseollin from Phaseolus vulgaris**
(b)	**Casbene from Ricinus communis**
(c)	**Pinostrobin chalcone from Cajanus cajan**
(d) and (e)	**Two isomeric stilbene-2-carboxylic acids from cajanas cajan**
(f)	**Arachidin I, a stilbene phytoalexin from Arachis hypogaea**
(g)	**Wyerone acid from Vicia faba**
(h) and (i)	**Rishitin and phytuberin, respectively from Solanum tuberosum**
(j), (k) and (l)	**Avenalumins I, II and III, respectively from Avena sativa**
(m) and (n)	**Methoxybrasinin and cyclobrassinin, respectively from Brassica juncea**
(o)	**6-Methoxymellein from Daucus carota**
(p) and (q)	**Resveratrol and pterostibene from Vitis vinifera**
(r)	**Glyceollin I from Glycine max**
(s)	**Momilactone A from Oryza sativa**

يلاحظ أن النبات الواحد قد ينتج أكثر من فيتوألاكسين واحد، كما قد يُنتَج الفيتوألاكسين الواحد بأكثر من نوع نباني، وبفعل أكثر من عامل أو مسبب مرضى، فمثلاً:

1 - تنتج الفاصوليا الفيتوألاكسينات: Phaseollin، و Phaseollidin، و Kievitone، و Phaseollinisoflavan.

2 - تنتج اللوبيا الفيتوألاكسينات: Phaseollin، و Phaseollidin، و Kievitone.

3 - تنتج البسلة الفيتوألاكسينات: Pisatin، و Mackiain (Deverall 1977).

4 - عُزِلَ الفيتوألاكسين: Hydroxyphaseollin من أوراق فول الصويا بعد نحو 30 ساعة من عدواها بفيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus، وازداد تركيز الفيتوألاكسين المنتج بالأوراق تدريجيًّا حتى 48-72 من العدوى بالفيرس، ثم انخفض بعد ذلك. وكان إنتاج الفيتوألاكسين متناسبًا - طرديًّا – مع عدد البقع المرضية بالورقة (Klarman & Hammerschlag 1972).

ونذكر - فيما يلى - قائمة بالفيتوألاكسينات التى تنتجها بعض العائلات النباتية التى درست فيها ظاهرة إنتاج الفيتوألاكسينات بشئ من التفصيل (عن Dixon 1981):

العائلة	أنواع الفيتوألاكسينات التى تنتجها
البقولية Leguminosae	medicarpin, pisatin, phaseollin,
	glyceollin (peterocarpans), vetitol, sativan, phaseollin-isoflavan (isoflavans), kievitone (isoflavanone), wyerone, wyerone acid
الباذنجانية Solanaceae	rishitin, phytotuberin, capsidol, glutinosone (terpenoids)
الخبازية Malvaceae	vergosin, hemigossypol
الخيمية Umbelliferae	xanthotoxin
العليقية Convolvulaceae	ipomeamarone
المركبة Compositae	safynol, dehydroxysafynol
الأوركيدية Orchidaceae	orchinol, hircinol

ولمزيد من التفاصيل عن الدراسات المبكرة حول الفيتوألاكسينات التى تنتجها مختلف العائلات النباتية .. يراجع Ingham (1982) بشأن العائلة البقولية، و Kuc (1982) بشأن العائلة الباذنجانية، و Coxon (1982) بشأن العائلات الأخرى.

كما التنوع الهائل فى نوعيات العوامل التى يمكنها استحثاث تكوين وتراكم الفيتوألاكسينات، والعدد الكبير المعروف منها، فكذلك يتنوع تركيب الفيتوألاكسينات تنوعًا هائلاً، وتعرف منها أعداد كبيرة. وحتى عام 1995 كان قد تم تعريف أكثر من 350 فيتوألاكسين كيميائيًّا عزلت من حوالى 30 عائلة نباتية، وكان أكثرها (130 فيتوألاكسين) من العائلة البقولية، كما كانت غالبيتها من ذوات الفلقتين، ولكنها عزلت من ذوات الفلقة الواحدة كذلك، مثل الأرز، والذرة، والسورجم، والشعير، والبصل، والزنبق. وقد أمكن عزل الفيتوألاكسينات من السيقان، والجذور، والأوراق، والثمار، إلاّ أنه لم يمكن فى كل الحالات عزلها أو عزل الفيتوألاكسين الواحد من مختلف الأعضاء النباتية؛ الأمر الذى يتوافق - غالبًا - مع تخصص المسببات المرضية على إصابة مختلف الأعضاء النباتية.

وبصورة عامة .. تقسم الفيتوألاكسينات إلى مجموعتين: تلك التى تحتوى فى تركيبها على ذرات كربون، وأيدروجين، وأكسجين فقط (شكل 7-24)، وتلك التى تحتوى فى تركيبها على ذرات أخرى بالإضافة إلى الكربون والأيدروجين والأكسجين (شكل 7-25).

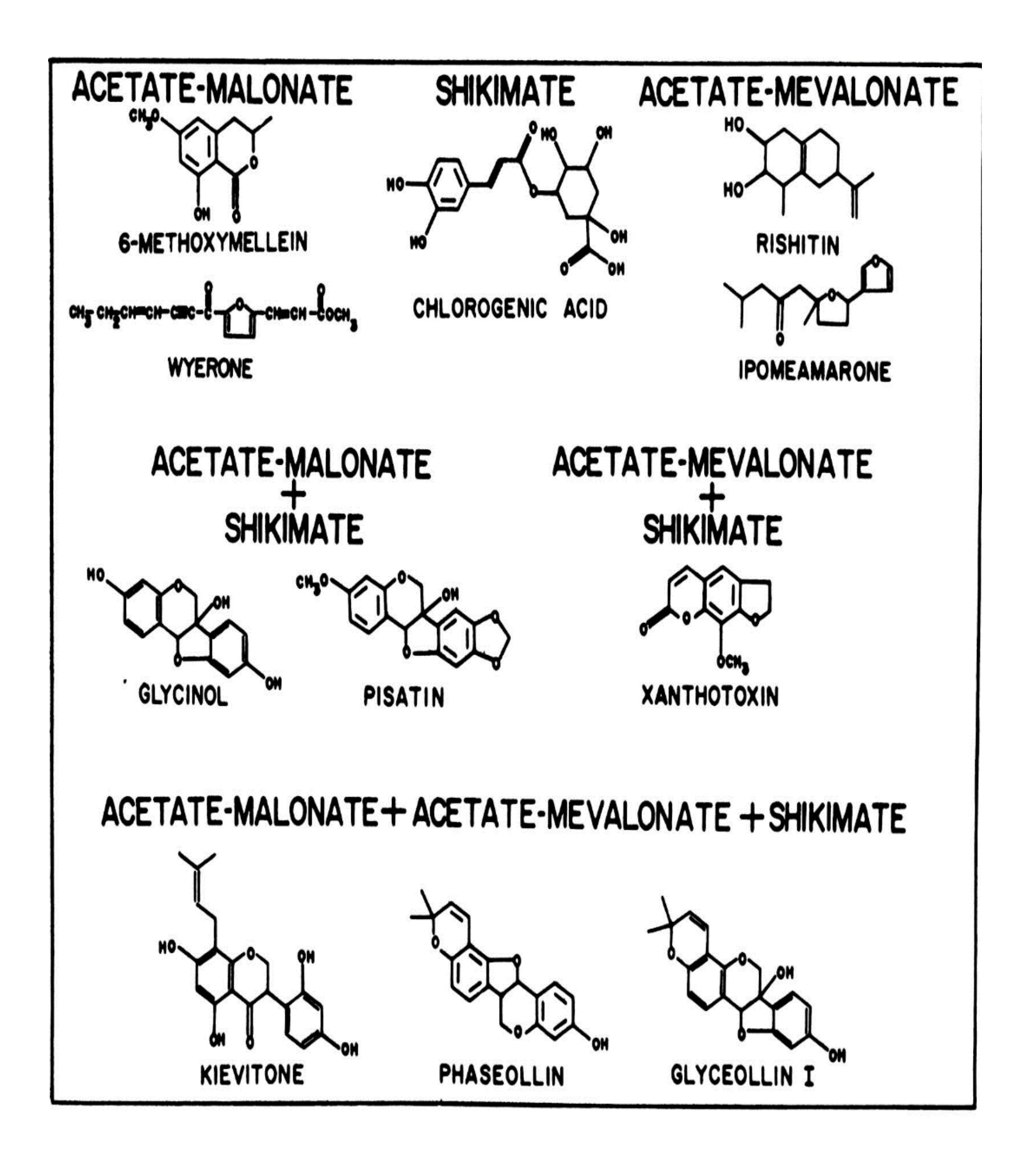
شكل (7-24): فيتوألاكسينات تحتوى – فقط – على كربون وأيدروجين وأكسجين فى تركيبها:

A: Medicarpin-red clover, white clover, alfalfa, chickpea; B: Tsibulin Id-onion; C: Lettucenin A-lecttuce; D: Casbene-castor bean; E: Reveratrol-peanut, grape; F: Scoparone-cirus; G: Caffeic acid ester of arabinosyl-5-0-apogenindin-sorghum.

شكل (7-25): فيتوألاكسينات تحتوى فى تركيبها على ذرات أخرى بالإضافة إلى الكربون والأيدروجين والأكسجين:

A: Cyclobrassinin-cabbage, Chinese cabbage, rapem turnips; B: 3-Cyanomethyl-3-hydroxy-oxindole-cabbage; C: Spirobrassinin-turnip; D: Dianthalexin-carnation.

وبسبب التنوع الكبير فى التركيب الكيميائى للفيتوألاكسينات (شكل 7-26) فإنه لا تعرف علاقة واضحة تربط بين نشاطها المضاد للكائنات الدقيقة وتركيبها الكيمائى.



شكل (7-26): المسارات الأيضية الخاصة بتمثيل بعض الفيتوألاكسينات (عن KuĆ 1995).

كذلك لا توجد قواعد محددة تربط ما بين التركيب الكيميائى للفيتوألاكسينات والعائلات التى تنتج فيها كما يلى:

الفيتوألاكسينات (PA) أو المجموعة الكيميائيـــــــــــــــــة التى ينتمى إليها	العائلات النباتية أو الأنواع النباتية التى تنتج فيها
Phenyl propanoid PAs	البقولية - الباذنجانية - العليقية - الخيمية - النجيلية
Isflavonoid PAs	البقولية ولا تنتج فى الباذنجانية
Sesquiterpenoid PAs	الباذنجانية ولا تنتج فى البقولية
الـ **rishitin** (وهو: **norsesquiterpenoid PA**)	البطاطس والتبغ ولا ينتج فى الفلفل
الـ **capsidol** (وهو: **sesquiterpenoid PA**)	التبغ والفلفل ولا ينتج فى البطاطس

إن المسارات الأيضية الرئيسية (الـ **shikimate**، والـ **acetate-malonate**، و الـ **acetate-mevalonate**) التى توفر بادئات تكوين الفيتوألاكسينات توجد فى جميع النباتات، وهى المسئولة عن تمثيل جميع المركبات الحيوية التى تلزم لتأمين تمثيل مختلف المركبات الضرورية لمختلف مراحل النمو والتطور النباتى (**housekeeping compounds**)، وتنشأ الفيتوألاكسينات عن طريق انحراف – جزئى – لبعض من الـ **housekeeping precusors**، وما يرتبط بذلك من نشاط يحدث فى إنزيمات مسارات تمثيل الـ **housekeeping compounds** وظهور لإنزيمات تختص بخطوات أيضية وثيقة الصلة بتمثيل الفيتوألاكسين.

هذا ويمكن أن تتوفر البادئات التى تلزم لتمثيل الفيتوألاكسين من مسار أيضى واحد أو من مسارين أو ثلاثة (شكل 7-26)؛ فمثلاً .. يُتحصل على بادئات تمثيل الـ **phaseollin** من المسارات الأيضية الثلاثة. وبذا .. فإنه لا يتعين – فقط – تنظيم المسارات الثلاثة لتوفير بادئات بقدر كافٍ، ولكن يتعين – كذلك – تمثيل أو تنشيط عمل الإنزيمات التى تلزم لتحويل البادئات إلى مركبات وسطية مناسبة. ويجب أن يتم كل ذلك دون أن يتسبب فى حدوث انقطاع فى إمدادات الـ **housekeeping compounds** لفترات طويلة (عن **Kuć 1995**).

وللتفاصيل الخاصة بالخصائص الطبيعية والكيميائية للفيتوألاكسينات .. يراجع Cruickhank & Perrin (1973) بخصوص Phaseollin، و Cruickshank (1965) بخصوص الـ Pisatin، و Katsui وآخرون (1968) بخصوص الـ Rishitin، و Deverall (1977)، و Wain (1977) بخصوص الفيتوألاكسين بصورة عامة.

تأثير الفيتوألاكسينتات على الكائنات الدقيقة وعلاقة ذلك بالمقاومة

دُرس تأثير الفيتوألاكسين بيزاتين Pisatin الذى تنتجه البسلة - كمثال - على عدد كبير من الفطريات، كان بعضها من تلك التى تتطفل طبيعيًّا على البسلة، بينما لم يكن بعضها الآخر كذلك، وكانت جميعها من الفطريات الهامة التى تمثل مختلف المجاميع الفطرية.

وقد أوضحت هذه الدراسة أن الفطريات التى تصيب البسلة أقل حساسية للبيزاتين من الفطريات التى لا تتطفل طبيعيًّا على البسلة. وقد حُصل كذلك على نتائج مشابهة بالنسبة لكل من الفيتوألاكسينين الـ Viciatin الذى ينتجه الفول الرومى، والـ Phaseollin الذى تنتجه الفاصوليا.

وجدير بالذكر أن إنتاج الـ Pisatin فى قرون البسلة لا يبدأ قبل مرور 6-8 ساعات من حقن (عدوى) القرون - فى أماكن البذور - بالفطر المناسب، ثم يزداد تركيز الفيتوألاكسين تدريجيًّا مع الوقت لمدة 12-30 ساعة (عن Cruickshauk 1965).

ويمكن القول إن المقاومة هى الحالة التى يتمكن فيها العائل من الاستجابة - للإصابة - بإنتاج فيتوألاكسين بتركيز يصل إلى الحد اللازم لوقف نمو المسبب المرضى أو يزيد عليه. كما يمكن تعريف القابلية للإصابة بأنها الحالة التى لا يمكن فيها للعائل الاستجابة للإصابة بالسرعة الكافية لإنتاج الفيتوألاكسين بالتركيز المناسب لوقف نمو المسبب المرضى.

إن الفيتوألاكسينات مركبات قاتلة تؤثر على كل من البكتيريا، والفطريات، والنيماتودا، والحيوانات الأرقى، والنباتات. ومع التباين الشديد للفيتوألاكسينات فإن الكائنات الحية تتباين بشدة فى مدى حساسيتها لها. وعلى سبيل المثال .. تعد البكتيريا الموجبة لصبغة جرام أكثر حساسية – بصورة عامة – عن البكتيريا السالبة. كذلك تتباين سلالات المسبب المرضى الواحد، حيث تكون السلالات ذات الضراوة العالية - عادة - أقل حساسية وتتحمل تركيزات أعلى من الفيتوألاكسينات عن السلالات عديمة الضراوة، وغالبًا ما يرتبط ذلك بقدرة السلالات العالية الضراوة على تحويل الفيتوألاكسينات المتراكمة فى موقع الإصابة إلى مركبات غير سامة لها.

ومن أهم خصائص الفيتوألاكسينات أنها غير متخصصة non-specific على مجموعات معينة من المسببات المرضية وأن تأثيرها السام متعدد المواقع، أى إنها multisite toxicants. وتؤدى معاملة الفطريات بالفيتوألاكسينات إلى تحبب السيتوبلازم واختفاء محتويات الخلية؛ مما يدل على أن الأغشية الخلوية هى أحد المواقع التى تؤثر فيها الفيتوألاكسينات. ومن التأثيرات السامة المعروفة للفيتوألاكسينات التأثير على الأغشية البلازمية لليبوسومات lyposomes، وإنبات الجراثيم الفطرية، والنمو الميسيليومى، وإتلاف الريبوسومات، والشبكة الإندوبلازمية، وأغشية الميتوكوندريات، والأغشية النووية، والأغشية البلازمية المحيطة بالسيتوبلازم والمحيطة بالفجوات العصارية.

كذلك تتباين الكائنات الدقيقة فى قدرتها على تحويل الفيتوألاكسينات إلى مركبات غير سامة، ومما يدعم ذلك الأمـر تباين الفيتوألاكسينات ذاتها فى خصائصها الكيميائية.

ومن بين الطرق الهامة التى تتحول بها الفيتوألاكسينات إلى مركبات غير سامة detoxification، ما يلى:

1 – الأكسدة:

تعد الأكسدة عند موقع كربونى واحد إحدى الوسائل التى يمكن أن تصبح بها الـ pterocarpan phytoalexins أقل سمية (شكل 7-27). كذلك يمكن للفطرين: Botrytis cinerea، و Fusarium oxysporium f. sp. vasinfectum أكسدة فيتوألاكسين الفلفل capsidol إلى capsidiol (شكل 7-28).

شكل (7-27): تحويل الفيتوألاكسين phaseollin (a) إلى المركب غير السام 6a-hydroxyphaseollin (b) بأكسدته عند الموقع 6a.

شكل (7-28): تحويل الفيتوألاكسين capsidol (a) إلى المركب غير السام capsidiol (b) بالأكسدة.

2 - الهدرجة:

تعد الهدرجة hydration (أو الاتحاد مع الماء) إحدى الوسائل التى تحول بها المسببات المرضية (مثل: Fusarium solani f. sp. phaseoli) الفيتوألاكسينات السامة (مثل فيتوألاكسينا الفاصوليا: الـ phaseollidin، والـ kievitone) إلى هيدرات hydrates (شكل 7-29).

3 – الاختزال:

يمكن أن تصبح الفيتوألاكسينات أقل سمية بالاختزال، كما يحدث عند اختزال الـ pterocarpans إلى isoflavans (شكل 7-30).

شكل (7-29): تحويل الفيتوألاكسين phaseollidin (a)، و kievitone (b) إلى مركبين غير سامين بالهدرجة.

(a) (b)

شكل (7-30): تحويل الـ pterocarpans إلى isolfavans غير سامة بالاختزال، علمًا بأن الـ pterocarpans هى:

R1, R2, R3 = H; R4 = OCH3: medicarpin

R1, R2 = H R3 R4 = OCH2O: maackiain

R2, R3 = H; R1, R4 = OCH3: 3-hydroxy-2,9-dimethoxypterocarpan

R1, R2, R3 = H; R4 = OH: 3,9-dihydroxypterocarpan

R1 = H, R2 = OH; R3 R4 = OCH2O: 3,6a-dihydroxy-8,9-methylene-dioxypterocarpan.

4 - إزالة مجموعات المثيل:

تعد إزالة مجموعات المثيل demethylation للفيتوألاكسين: pisatin، ليتحول إلى 6a-hydroxymaackianin (اختصارًا: HMK وسيلة لإفقاده لسميته، وذلك بالنسبة لعديد من الفطريات التى تكون أقل حساسية للمركب HMK عند الـ pisatin.

المعاملة بالفيتوألاكسينات لمكافحة الأمراض

يعتقد البعض أنه طالما أن الفيتوألاكسينات مركبات طبيعية يستخدمها النبات فى دفاعه ضد الإصابات المرضية فإنه قد يمكن استخدامها - إذا أمكن تخليقها صناعيًّا - بأمان – كمبيدات فى مكافحة الأمراض، إلاّ أن هذا الاعتقاد لا يخلو من المآخذ والأخطاء. فالمركبات التى توجد طبيعيًّا فى النباتات لا تكون بالضرورة آمنة؛ فعديد من المبيدات القاتلة تستخلص من النباتات، كما أن بعض الأنسجة النباتية تعد شديدة السمية للحيوانات بسبب ما تحمله من مركبات حامية للنباتات. ونظرًا لأن الفيتوألاكسينات لا تنتقل فى النباتات، فإنه سيتعين تكرار المعاملة بها عدة مرات. ونظرًا لتعقيد تركيبها الكيميائى فإن تخليقها لن يكون سهلاً، وغالبًا فإن استعمالها لن يكون اقتصاديًّا.

كذلك لم تُجدِ محاولات معاملة النباتات بمستحثات تمثيل الفيتوألاكسينات من غير المسببات المرضية؛ نظرًا لأن النباتات المعاملة كانت دائمًا متقزمة وغير منتجة؛ وربما حدث ذلك بسبب تحويل المثيرات للمسارات الأيضية عن طريقها الطبيعى إلى طريق إنتاج الفيتوألاكسينات. هذا بينما نجد فى الطبيعة أن الفيتوألاكسينات لا تنتج إلاّ فى مواقع الإصابة وحولها فقط، وحينما يحتاج الأمر إليها فقط (عن Kuć 1995).

هذا وقد أمكن تمثيل عدد من الفيتوألاكسينات معمليًّا، نذكر منها ما يلى:

الفيتوألاكسين	المصدر الطبيعى له
Pisatin	البسلة
Rishitin	البطاطس
Vignafuran	اللوبيا
Orchinol	جنسان من العائلة الأوركيدية Orchidaceae

مصادر إضافية عن الفيتوألاكسينات

لمزيد من المعلومات عن الفيتوألاكسينات .. يراجع ما يلى:

المرجع	الموضوع
Muller (1961)	مقال كلاسيكى عن الفيتوألاكسينات
Cruickshank (1963)	عام
Cruickshank (1965)	دراسات مفصلة على البيزاتين
Kuć (1972)	عام
Dixon (1980)	إنتاج الفيتوألاكسينات فى مزارع الأنسجة
Cruickshank (1980)	الجوانب العملية لدراسة الفيتوألاكسينات
Keen (1981)	تقييم لدور الفيتوألاكسينات
Bailey (1982)	عام
Mansfield (1982)	فسيولوجيى الدور الذى تلعبه الفيتوألاكسينات فى مقاومة مختلف مسببات الأمراض

Bailey & Mansfield (1982)	**شامل**
Daniel & Purkayastha (1995)	**شامل**

المقاومة النشطة: تمثيل البروتينات الدفاعية

يرتبط تمثيل بروتينات عديدة مختلفة بالمقاومة النشطة لعديد من الأمراض، وهى التى تعرف باسم pathogensis-related proteins (اختصارًا: PRP).

ومن أبرز الأمثلة على الـ PRP ما يلى:

1 - إنزيمات الشيتنيز chitinases والجلوكانيز glucanases التى تتكون استجابة للإصابة بأنواع عديدة من الفطريات والبكتيريا والفيروسات، وللمعاملة بالإثيلين وبعض المثيرات.

2 - الثيونينات thionins التى يتراكم تمثيلها فى الشعير - بأكثر مما يكون عليه تركيزها العادى المنخفض - على أثر تعرضه للإصابة بالفطر Erysiphe graminis.

3 - بروتنيات أخرى غير مُعَرَّفة، مثل الـ 23 kDa protein - المثبط لتكاثر الفيرس - والذى عُزِل من نباتات التبغ التى تستجيب للحقن بفيرس موزايك التبغ بتكوين بقع موضعية - على أثر تعرضها للإصابة بالفيرس (عن Strange 1993).

ومن الأمثلة الهامة الأخرى للـ PRP ما يلى (عن Yun وآخرين 1997):

- lipid transfer proteins
- 2S storage albumins
- ribosome-inactivating proteins
- polygalacturonase inhibitors
- nonenzymatic chitin-binding proteins
- defensins

وللتفاصيل المتعلقة بموضوع الـ PRP .. يراجع Meins وآخرين (1992) بخصوص إنزيمات الشيتينيز chitinases والجلوكانيز glucanases، و Garcia-Olmedo وآخرون (1992) بخصوص الثيونينات، وكلا من Cut & Klessig (1992)، و Shewry & Lucas (1997) بخصوص البروتينات النباتية ذات العلاقة بالمقاومة بصفة عامة.

كذلك تقوم النباتات بتمثيل بروتينات أخرى دفاعية كثيرة سوف نتطرق لدراستها فى كل من هذا الفصل وتحت الهندسة الوراثية.

الجليكوبروتينات الغنية بالهيدروكسى برولين

درس Benhamou وآخرون (1990) سرعة تراكم الجليكوبروتينات الغنية بالهيدروكسى برولين hydroxyl proline-rich glycopreteins (اختصارًا: HPGPs) فى خلايا جذور الطماطم القابلة للإصابة بالفطر Fusarium oxysporium f. sp. radicis-lycopersici، وقد أوضحت الدراسة أنه بينما لم يكن لتلك الجليكوبروتينات أى تواجد فى المزارع النقية للفطر، وأن تواجدها كان بتركيزات منخفضة فى الجدر الخلوية لجذور النباتات غير المصابة، فإن تركيزها ازداد فى الجدر الخلوية لأنسجة جذور الطماطم التى أصيبت بالفطر، وخاصة بعد 96-120 ساعة من التعرض للإصابة. وقد بدا أن تراكم تلك المركبات حدث بعد ملامسة الفطر للجدر الخلوية لخلايا العائل وكنتيجة للأضرار التى حدثت للأنسجة. ومن الواضح أن ذلك التراكم كان استجابة دفاعية متأخرة من جانب النبات ضد الفطر، وهو الأمر المتوقع حدوثه فى الأصناف القابلة للإصابة.

كذلك وجدت زيادة فى تركيز الـ HPGPs فى الأنسجة المتحللة للتبغ الذى يستجيب بفرط الحساسية للحقن بفيرس موزايك التبغ. ووجد أيضًا أن الـ HPGPs ازداد تركيزها فى الجدر الخلوية للخلايا الحية المجاورة للخلايا التى ماتت بفعل المقاومة بفرط الحساسية فى عدة حالات، منها: أوراق فاصوليا حقنت بالبكتيريا الرمية Pseudomonas syringae، والبكتيريا المتطفلة Pseudomonas syringae pv. phaseolicola، وسويقات جنينية سفلى للفاصوليا حقنت بالفطر Colletotrichum lindemuthianum (عن Strange 1993).

كذلك درس Benhamou وآخرون (1991) سرعة تراكم الجليكوبروتينات الغنية بالهيدروكسى برولين فى جذور القاوون المقاومة والقابلة للإصابة بالفطر Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici بعد عدواها به، حيث تبين أن تلك الجليكوبروتينات ازاد تركيزها بصورة أسرع وبقدر أعلى فى الأصناف المقاومة للفطر عما فى الأصناف القابلة للإصابة. وقد ارتبط تراكم تلك المركبات فى الأصناف القابلة للإصابة (المتوافقة مع الفطر compatible) باجتياح الفطر لها، وبدا أن ذلك يحدث نتيجة للأضرار التى تحدث بالجدر الخلوية. أما فى الأصناف المقاومة (غير المتوافقة مع الفطر incompatible) فقد تراكمت فيها الجليكوبروتينات فى جدر الخلايا التى لم تُصب بالفطر؛ بما يعنى احتمال أن يكون لها دور فى الحماية من اختراق الفطر للجدر الخلوية. ومما يزيد من احتمال ذلك الدور الذى يمكن أن تلعبه الجليكوبروتينات ازدياد تركيزها فى الـ papilla (وهى التى تعد حواجز فيزيائية تعيق تقدم الفطر وتتكون عقب الإصابة به) وفى المسافات التى توجد بين الخلايا.

البروتينات المثبطة لنشاط البولى جالاكتورينيز

تعد البروتينات التى تثبط نشاط إنزيمات البولى جالاكتوروينيز polygalacturonase الفطرى أحد مكونات النظام الدفاعى للنباتات ضد المسببات المرضية (Stotz وآخرون 1994). يطلق على تلك البروتينات اسم polygalacturonase-inhibiting proteins (اختصارًا: PGIPs)، وهى بروتينات نباتية تفرز خارج الخلية extracellular وتتوع فى تركيبها، ومن ثم فى قدرتها على تثبيط الطرز المختلفة من إنزيمات البولى جالاكتوينيز التى تنتجها مختلف الفطريات الممرضة، ونوضح - فيما يلى - أهمية تلك البروتينات كنظام دفاعى نباتى ضد الإصابات المرضية.

إن الجدر الخلوية النباتية الغنية بعديدات التسكر (مثل المركبات البكتينية) تعد أحد العوائق التى تقف حائلاً أمام إصابة الفطريات الممرضة للنباتات، حيث يتعين على غالبية الفطريات التغلب على ذلك العائق ليمكنها الوصول إلى الخلايا النباتية. ويحدث ذلك بإفراز الفطريات لعدد من الإنزيمات التى يمكنها تحليل بوليمرات الجدر الخلوية، مثل إنزيمات البولى جالاكتورينز (PGs) التى تحلل الجدر (أو الـ endopolygalacturonases) وتؤدى إلى تهتك النسيج النباتى؛ مما يساعدها فى استعماره، ويعتقد بأن نواتج نشاط تلك الإنزيمات تفيد الفطريات كمصدر لغذائها. كذلك تُطلِق الـ PGs الفطرية - من الجدر الخلوية النباتية - قِطعًا من الـ oligogalacturonides (اختصارًا: OGs) تعد بمثابة مستحثات elicitors لمجموعة متنوعة من الاستجابات النباتية الدافاعية، مثل تمثيل الفيتوألاكسينات، واللجننة، وتمثيل مثبطات البروتينيز، والتحلل.

وتُنتَج الـ OGs النشطة فى عملية حث النظام الدفاعى النباتى - بفعل نشاط الـ PGs - وذلك إذا تحكم فى نشاط الإنزيم مثبطات بروتينية خاصة هى الـ PGIPs (أو الـ PG-inhibiting proteins). تتواجد تلك البروتينات فى الجدر الخلوية لعديد من النباتات، وتعمل على الحد من استعمار الفطريات لها بالعمل كمثبطات لنشاط الـ PGs وأيضًا كمنظمات لعمل تلك الإنزيمات، وتحفيز إطلاق الـ OGs. وتعد تلك هى الآلية التى ربما تحول بها النباتات الـ endopolygalacturones الفطرية - وهى إنزيمات هامة لضراوتها - إلى مركبات تستحث آلية الدفاع النباتى ضدها (عن Cervone وآخرين 1989، و De Lorenzo وآخرين 2001).

وقد اكتشف تواجد الـ PGIPs فى عديد من ذوات الفلقتين، وكذلك فى وحيدات الفلقة الغنية بالبكتين، مثل البصل والكرات (جدول (7-5)، وهى على درجة كبيرة من التخصص فى التعرف على الـ PGs الفطرية.

وتنتظم الجينات التى تشفر لتكوين PGIPs فى عائلات، تكون جميع بروتينات كل عائلة منها متماثلة تمامًا تقريبًا فى جميع خصائصها باستثناء تخصصها التى تتعرف به على بولى جالاكتورونيز معين. وتستحث الـ PGIPs للتكوين بفعل الإصابة بالمسبب المرضى وما يتبعه من إشارات الشدِّ الذى يرافق عملية الإصابة المرضية.

أما الـ PGs فإنها تنتج بواسطة جميع الفطريات الممرضة للنباتات تقريبًا (جدول 7-6)، وتظهر تنوعًا كبيرًا فى الطرز الأيزوإنزيمية، التى يبدو أنها قد تطورت لتلائم عمليات التطفل الممرض فى ظروف متباينة وعوائل مختلفة (عن De Lorenzo وآخرين 2001).

المقاومة النشطة: تمثيل الإنزيمات النشطة فى المقاومة

اكتشفت علاقة قوية بين نوعيات مختلفة من الإنزيمات وخاصية المقاومة للأمراض، ونقدم - فيما يلى - أمثلة لبعض تلك الإنزيمات.

إنزيمات الشيتينيز والبيتا-1، 3-جلوكانيز

على الرغم من أن الإنزيمات الخاصة بالـ hydrolysis قد لا تكفى - منفردة - لحماية النباتات من الإصابات المرضية، فإن لبعض طرزها الإيزوزيمية isozymes دور مباشر كمضادات ميكروبية، كما قد يقوم بعضها بإسراع وتضخيم عملية المقاومة للمسببات المرضية بتسببها فى تكوين المركبات التى تبدأ منها حالة فرط الحساسية.

جدول (5-7): قائمة ببعض جينات الـ PGIPs التى أمكن عزلها لأغراض الهندسة الوراثية.

النوع النباتى	الجيرمبلازم	الجين	طراز الـ clone
Actinidia delicosa	Hayward	Adogipl (pgip)	cDNA
Antirrhinum majus	T153	FIL2	cDNA
Aroidopsis thaliana		Atpgipl (PGIP1)	cDNA
	Columbia	Atpgipl (PGIP1)	Genomic
		Atpgip2 (PGIP2)	cDNA
	Columbia	Atpgip2 (PGIP2)	Genomic
	Columbia	FLR1	Genomic
		FLR1	cDNA
	Columbia	FLR2 (LRR pgip)	Genomic
Cirus iyo		Cipgip1 (PGIP A)	PCR
		Cipgip2 (PGIP B)	PCR

Citrus jambhiri		**Cipgip1 (PGIP A)**	**PCR**
		Cipgip2 (PGIP B)	**PCR**

تابع جدول (7-5).

النوع النباتى	**الجيرمبلازم**	**الجين**	**طراز الـ clone**
Cirus sinensis	**Hamlin**	**Cspgip1**	**cDNA**
Cirus unshiu		**Cupgip1 (PGIP)**	**PCR**
Daucus carota	**Autumn King**	**AFP**	**cDNA**
Eucalyptus camaldulensis		**Ecpgip1 (pgip)**	**PCR**
Eucalyptus grandis		**Egpgip1 (pgip)**	**PCR**
Eucalyptus nitens		**Enpgip1 (pgip)**	**PCR**
Eucalyptus saligna		**Espgip1 (pgip)**	**PCR**
Eucalyptus urophylla		**Eupgip1 (pgip)**	**PCR**

PCR	Fmpgip1 (PGIP)		Fortunella margarita
PCR	Gmpgipl (pgip)	Canton	Glycine max
Genomic	Gmpgip1	Williams	
Genomic	Gmpgip2	Williams	
RT-PCR	Gmpgip3 (Gmpgip)	Essex; PI437654	
Genomic	Lmpgip1	VFNT Cherry	Lycopersicon esculentum
cDNA	Mdpgip1	Golden delicious	Malus domestica
cDNA	Pvpgip1 (pgip-1)	Pinto	Phaselous vulgaris
Genomic	Pvpgip1 (pgip)	Saxa	
cDNA	Pvpgip2.1 (pgip-2)	Pinto	
Genomic	Pvpgip2.2	Pinto	
Genomic	Pvpgip3	Pinto	
Genomic	Pvpgip4	Pinto	

Poncirus trifoliate		Ptpgip1 (PGIP)	PCR
Prunus armeniaca		Papgip1 (Papgip1g)	PCR
Prumus mahaleb		Pmpgipl (PGIP)	PCR
Pyrus communis	Bartlett	Pcpgip1 (PGIP)	PCR; RT-PCR
Pyrus pyrifolia		Pppgip1 (PPFRU19)	cDNA
Rubus ideaeus	Autumn Bliss	Ripgip 1 (PGIP1)	cDNA
Vitis vinifera	Pinotage	Vvpgip1	Genomic

جدول (7-6): الأنشطة المميزة لبعض الـ PGIPs (عن De Lorenzo وآخرين 2001).

			Polygalacturonases(ب)	
النبات	**النسيج**	**PGIP(أ)**	**المثبطة**	**غير المثبطة**
البرسيم الحجازى	**الكالس - الأوراق الفلقية**	**AnPG-affinity**	**Aspergillus niger**	
	الأوراق	**purified**		
التفاح	**الثمار**	**Partially**	**Nectria galligena**	**Penicillium expansum**
		purified	**Phomopsis mali**	**Phytophthora syringae**

تابع جدول (7-6).

			(ب)Polygalacturonases	
النبات	النسيج	PGIP(أ)	المثبطة	غير المثبطة
			Fusarium lateritium	
			Glomerella cingulata	
		Purified	B. cinerea	
	الأوراق		Venturia inaequalis	
الفاصوليا	القرون		A. niger	
			F. moniliforme	
			B. cinerea	
		PGIPA	A. niger	
			F. moniliforme	
		PGIPB	A. niger	F. moniliforme
	السويقة الجنينية السفلى		Colletotrichum lindemuthianum	
			F. oxysporum	
			Sclerotium rolfsii	
		Purified	C. lindemuthianum	S. rolfsii
			F. oxysporum	
		Partially	C. lindemuthianum	
		purified	C. lagenarium	

		AnPG-affinity	**A. niger**	
		purified	**F. moniliforme**	
			C. lindemuthianum	**Erwinia carotovora**
			A. Japonicum PG1	**Tomato fruit exoPG**
			A. Japonicum PG2	**Tomato fruit exdoPG**
الكستناء	**القلف**		**Cryphonectria parasitica**	**Rhizopus sp.**
			C. lindemuthianum	
العنب	**الثمار**	**PGIPA**	**A. niger**	
			B. cinerea	
		PGIPB	**B. cinerea**	**A. niger**
				F. moniliforme
الفلفل	**الثمار**		**B. cinerea**	**G. cingulata exoPG**
			Glomerella cingulata PG	**G. cingulata exoPTE**
الكرات	**السيقان**		**Sclerotinia sclerotiorum**	

			Sclerotinia cepivorum	
			Didymella bryoniae	
			B. cinerea	
			Macrophomina phaseolicola	
			Phama terrestris	
			Phoma lycopersici	

تابع جدول (7-6).

			Polygalacturonases(ب)	
النبات	النسيج	PGIP(أ)	المثبطة	غير المثبطة
	السيقان	Purified	Botrytis aclada	S. cepivorum
			S. sclerotiorum PGII	F. moniliforme
			S. sclerotiorum PGIV	
Lupinus albus	الجذور		A. niger	
البصل	الأبصال		S. sclerotiorum	F. moniliforme
			D. bryoniae	S. cepivorum
			B. cinerea	P. lycopersici
			M. phaseolicola	
			P. terrestris	

	Diplodia natalensis		جلد الثمرة	البرتقال
Phoma solani	Ascochyta pisi	Partially	الوريقات	البسلة
P. medicaginis PG-B	C. lindemuthianum	purified		
A. pisi exoPG	A. niger			
	Mycospherella pinodes			
	Phoma medicaginis PG-A			
	F. oxysporum f. sp. lycopersici			
	Aphanomyces eutiches			
F. oxysporum	A. niger	Partially	الثمار	الكمثرى
	B. cinerea	Purified		
	D. gregaria			
	P. expansum			
Postia placenta	A. niger PGI	Purified		
F. moniliforme	C. lindemuthianum			
	Cochliobolus sativus			
	Cryphonectria parasitica			

البيتونيا	حبوب اللقاح		**B. cinerea**	**Rhizoctonia solani**
			Stenocarpella maydis	**F. moniliforme**
			Collerotrichum	**F. oxysporum**
الراسبرى	الثمار	**Partially**	**B. cinerea PGI**	**B. cinerea exoPGI**
		Purified	**B. cinerea PGII**	**B. cinerea exoPGII**
			A. niger	**E. carotovora endoPLI**
				E. carotovora endoPLII
				E. carotovora endoPG
فول الصويا	البذور النابتة	**AnPG-affinity**	**A. niger**	
		purified	**S. sclerotiorum PGII**	
			S. sclerotiorum PGIV	
البطاطا			**Ceratocystis fimbriata**	

تابع جدول (7-6):

			Polygalacturonases(ب)	
النبات	النسيج	PGIP(أ)	المثبطة	غير المثبطة
الجميز	مزارع الخلايا		C. lindemuthianum	
			F. oxysporum	
			S. rolfsii	
الطماطم	السيقان		F. oxysporum	
			C. lindemuthianum	
			S. rolfsii	
	الثمار		G. cingulata	B. cinerea
	الثمار	Purified	A. niger	F. moniliforme
			B. cinerea	
		Purified	A. niger PGII	F. moniliforme
			A. niger PGI	P. placenta
			C. lindemuthianum	
			C. sativus	
			C. parasitica	

أ - حالة تحضير الـ PGIP.

ب - مصدر الـ PG.

تقوم إنزيمات الشيتينيز chitinases بتحليل الشيتين chitin، وهو عبارة عن سلسلة طويلة من الـ N-acetylglucosamine ترتبط معًا برابطة β-1,4. هذا .. ويشكل الشيتين المكون السائد فى الجدر الخلوية للفطريات، وبيض النيماتودا، وطبقات المعى الأوسط للحشرات. كذلك فإن بعض إنزيمات الشيتينيز النباتية تظهر نشاطًا فى عملية التحليل (تظهر lysozymal activity).

وقد وصفت ثلاثة طرز من إنزيمات الشيتينيز النباتية اعتمادًا على تركيبها البروتينى الأولى. ونظرًا للتنوع الشديد لتلك الإنزيمات وكثرة أعدادها فى النباتات، فقد اقترح أنها تلعب أدوارًا خاصة ومتنوعة. فمثلاً .. نجد أن لبعض إنزيمات الشيتينيز - دون غيرها - نشاطًا مضادًّا للفطريات، كما أن إنزيمات الشيتينيز التى عزلت من التبغ والطماطم كانت متخصصة على مسببات مرضية معينة دون غيرها.

إن كثيراً من الفطريات الممرضة للنباتات تحتوى فى جدرها الخلوية على الـ β-1,3-glucans بالإضافة إلى الشيتين. ولقد وجد أن لإنزيمات الشيتينيز chitinases والبيتا جلوكانيز β-1,3-glucanases المستخلصة من الطماطم والتبغ والبسلة تأثيرات تداؤبية synyrgestic مضادة للفطريات فى البيئات الصناعية. كذلك ثبت وجود التأثيرات المضادة للفطريات - فى النباتات - لكل من إنزيمات الشيتينيز والبيتا جلوكلونيز الخاصة بالطماطم والتبغ. ولقد اقترح أن التأثير التداؤبى لتلك الإنزيمات وخصوصيات تأثيرها ربما يكون مرده إلى التركيب الخاص بالجدر الخلوية فى الفطر المعنى. فمثلاً .. يبدو أن طبقات الشيتين لبعض الجدر الخلوية الفطرية تكون مطمورة فى بيتا جلوكانات β-glucans؛ مما يجعل الشيتين فى منأى عن تأثير إنزيمات الشيتينيز ما لم تقم إنزيمات البيتا جلوكانيز بتحليل البيتا جلوكونات أولاً.

كذلك فإن مثيرات تكوين المركبات عديدة التسكر oligosaccharides - الخاصة باستجابات المقاومة النباتية - يمكن أن يكون مردها إلى إنزيمات الشيتينيز والبيتا جلوكانيز؛ فلقد وجد أن إنزيمات β-1,3-glucanases لفول الصويا، وأيزوإنزيمات معينة من شيتينيز وبيتا جلوكانيز الطماطم قامت بتوليد مثيرات من مسببات مرضية فطرية، كما ولَّدت إنزيمات شيتينيز الطماطم مثيرات من الجراثيم النابتة للفطر Alternaria solani، ولكن ليس من الجدر الخلوية المكتملة التكوين لهذا الفطر.

ونجد فى الطماطم - على سبيل المثال - أن جميع الأصناف والسلالات المقاومة للفطر Alternaria solani تظهر نشاطًا طبيعيًّا ملحوظًا لكل من إنزيمى الشيتينيز chitinase والبيتا جلوكانيز-1، 3 β-1,3-glucanase عن تلك القابلة للإصابة. كما أن أيزوزيم الشيتينيز الـ 30 kDa ذاته الذى يظهر نشاطه فى الجيرمبلازم المقاوم قبل الإصابة يتراكم - كذلك - سريعًا إلى مستويات عالية فى ذلك الجيرمبلازم، وبسرعة أكبر وإلى مستويات أعلى جوهريًّا فيه عما فى الجيرمبلازم القابل للإصابة، وذلك بعد العدوى بالفطر. كذلك كانت تلك السلالات المقاومة أكثر كفاءة فى تكوين مثيرات استجابة فرط الحساسية من الجدر الخلوية للفطر A. solani عن السلالات القابلة للإصابة. ولذا .. يعتقد بأن إنتاج تلك السلالات المقاومة من إنزيمات الشيتينيز والبيتا جلوكانيز - بصورة طبيعية - قبل الإصابة يسرع - كذلك - فى تكوين المثيرات من المركبات عديدة التسكر - وبقدر أكبر - بمجرد التلامس مع الفطر، ومن ثم تنشط سلسلة التفاعلات التى تؤدى إلى المقاومة.

ولقد تكرر هذا النمط فى إنتاج إنزيمات الشيتينيز والبيتا جلوكانيز فى الأصناف المقاومة - مقارنة بغير المقاومة - بصورة تامة (قبل وبعد العدوى بالمسبب المرضى)، أو جزئية (قبل العدوى فقط أو بعدها فقط أو بالنسبة لأحد الإنزيمين دون الآخر) فى عدد كبير من المحاصيل المقاومة لمسببات مرضية معينة، مثل: الكرنب، والشعير، والبسلة، والقمح، والقطن، والأرز، والبن، والعنب، والخيار، والفاصوليا، والفلفل، والفجل وغيرهم (عن Tuzun 2001).

يقوم نظام معقد مضاد للأكسدة فى الخلايا النباتية بحمايتها من أضرار المركبات النشطة فى الأكسدة التى تتولد أثناء استجابات فرط الحساسية. يتضمن هذا النظام إنزيمات مضادة للأكسدة، مثل: superoxide dismutase (اختصارًا: SOD)، والبيروكسيديز peroxidase، والكاتاليز catalase. ويستدل من تعدد الصور الجزيئية (الإيزوزيمية) لتلك الإنزيمات وغيرها من الإنزيمات المضادة للأكسدة على أن لكل صورة منها دورًا مستقلاً.

كذلك فإن إنزيمات البيروكسيديز تعطى عند نشاطها مركبات يمكن أن تؤدى - فى وجود مركب مناسب معطى للأيدروجين مثل فوق أكسيد الأيدروجين - إلى إنتاج مركبات ذات تأثيرات مضادة للفيروسات (عن Tuzun 2001).

المقاومة النشطة: المقاومة المكتسبة

إن المسببات المرضية التى تُحدِث فى النباتات بقعًا متحللة غالبًا ما تستَحِث فيها حماية ضد مزيد من الإصابات بتلك المسببات أو بمسببات أخرى، وتعرف تلك الظاهرة باسم المقاومة المكتسبة acquired resistance. وقد اكتشفت تلك الظاهرة - بداية - فى الأمراض الفيروسية، ولكنها عرفت بعد ذلك فى الإصابات الفطرية والبكتيرية كذلك.

وقد تكون الحماية المكتسبة تلك محددة بموضع الإصابة ومحيطه المباشر القريب منه فقط، فيما يعرف باسم المقاومة المكتسبة الموضعية local acquired resistance، وقد يمتد ليصبح جهازيًّا ويشمل جميع أجزاء النبات، فيما يعرف باسم المقاومة المكتسبة الجهازية systemic acquired resistance.

المقاومة المكتسبة الموضعية

كانت بداية اكتشاف المقاومة المكتسبة الموضعية فى الإصابات الفيروسية التى تُحدث بقعًا موضعية متحللة necrotic local lesions لا تزيد مساحتها عن 1-2 مم، حيث تظهر المقاومة المكتسبة حول تلك البقع التى تسببها الإصابة الأولية، وهذا التأثير الدفاعى لا يكون متخصصًا ويمكن القضاء عليه بالمعاملة بالـ actinomycin D (وهو مثبط لتمثيل الرنا المعتمد على الدنا DNA-dependent RNA synthesis) قبل تعريض النبات للإصابة الفيروسية الجديدة. كذلك فإن الـ actinomycin D يزيد من حجم البقع المرضية التى تُحدثها فيروسات البقع الموضعية؛ مما يعنى أن كلا من المقاومة المكتسبة الموضعية وعملية تحديد البقع المحلية ذاتها تعتمد على تمثيل الرنا المعتمد على الدنا.

تحتوى النباتات التى تحدث بها ظاهرة الحماية المكتسبة الموضعية على بروتينات يتم تمثيلها استجابة للإصابة الأولية، وهى التى تعرف باسم البروتينات ذات العلاقة بالتطفل الممرض pathogensis-related proteins (اختصارًا: PRP). وقد تبين أن لبعضها نشاطًا لإنزيمات الشيتينيز chitinase، والبيتا-1، 3 جلوكانيز β-1,3-glucanases. فمثلاً .. وجد أن نشاط الشيتينيز يزداد فى الخيار استجابة لكل من الإصابات الفيروسية، والبكتيرية، والفطرية، وأن كلا من الشيتينيز والبيتا-1، 3 جلوكانيز يزدادان فى التبغ الحامل للجين N لدى تعرضه للإصابة بفيرس موزايك التبغ، علمًا بأن هذا الجين يحمى النبات من الإصابة بالفيرس بتكوين بقع موضعية متحللة. وبالمقارنة .. لا يُنتج هذين الإنزيمين فى نباتات التبغ التى لا تحتوى على ذلك الجين والتى تكون الإصابة فيها بفيرس موزايك التبغ جهازية (عن Strange 1993).

هذا .. وتقسم البروتينات المرتبطة بالأحداث المرضية PR proteins - وهى التى ترتبط كذلك - بظاهرة المناعة المكتسبة الجهازية SAR - إلى 14 عائلة، وتنتمى أكثر تلك البروتينات شيوعًا - وهى التى درست باستفاضة - إلى العائلتين 2، و 3، وهما اللتان عرفتا كـ: 1,3-β-glucanases، و chitinases، على التوالى، بينما تحتوى العائلات الأخرى على بروتينات لا تعرف وظيفتها (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

المقاومة المكتسبة الجهازية

تتشابه المقاومة المكتسبة الجهازية مع المقاومة المكتسبة الموضعية فى أن كلتيهما تلزمهما أن تؤدى الإصابة الأولية إلى تكوين بقع متحللة محلية، ولكن - وعلى خلاف المقاومة المكتسبة المحلية - فإن المقاومة المكتسبة الجهازية تنتشر فى جميع أجزاء النبات. فمثلاً .. يمكن حقن الأوراق السفلى لنبات التبغ بفيرس موزايك التبغ، وعند محاولة حقن الأوراق العليا للنبات ذاته بعد أيام قليلة بالفيرس ذاته فإنه تظهر مقاومة تتمثل فى نقص مساحة البقع المفردة المتكونة وأحيانًا فى أعدادها كذلك. ولا يعرف - حقيقة - ما إذا كانت البقع المتكونة على الأوراق العليا هى فعلاً أقل عددًا، أم أنها تكون صغيرة جدًّا إلى درجة يصعب معها عدها. وقد أوضحت الدراسات أن الحقن الأولى بالفيرس فى الأوراق السفلى يؤدى إلى إنتاج مادة تنتقل جهازيًّا فى النبات؛ لتحميه من الإصابات التالية. ولدهشة الباحثين وجد - كذلك - أن مجرد حك الأوراق السفلى للنبات بالغلاف البروتينى لفيرس موزايك التبغ أحدث نفس الحماية، علمًا بأن البروتين ذاته لم يحدث له انتقال فى النبات.

ولقد أوضحت الدراسات التالية لذلك أن الفطريات والبكتيريا لها ذات التأثير فى إحداث المقاومة المكتسبة الجهازية، وكانت البداية حينما اكتشف أن حقن الأوراق السفلى للخيار بالفطر Colletotrichum lagenarium أحدث بالنباتات مقاومة جهازية ضد نفس الفطر، وكذلك ضد مسببات مرضية أخرى. وقد استجابت النباتات - التى حدثت بها ظاهرة الحماية المكتسبة الجهازية - للتجريح ومزيد من الحقن بالفيرس بمزيد من اللجننة عما فى الأوراق التى لم تحدث فيها بها حماية جهازية.

وتُستَحدث المناعة المكتسبة الجهازية SAR استجابة للمسببات المرضية غير الممرضة كذلك (أى فى الحالات التى لا يكون فيها النبات أحد عوائلها)، وتكون - بصورة عامة - فعالة ضد الإصابة التالية بمدى واسع من المسببات المرضية، التى تتضمن فيروسات، وبكتيريا، وفطريات، ويمكن أن تستمر لعدة أسابيع أو شهور.

وقد اقترح ثلاثة عوامل تتحرك خلال النبات لإحداث ظاهرة المناعة المكتسبة كما يلى:

1 - حدوث موجه من فقد القطبية بالأغشية الخلوية membrane depolarization تمر خلال النبات استجابة للمثيرات والتجريح.

2 - دور فعال لحامض السلسيلك salicylic acid الذى يعرف بفاعليته فى حث التعبير الجينى للجينات التى تشفر لإنتاج الـ PRP.

يُستحَث تمثيل البروتينات بالأحداث المرضية عن طريق مسار حامض السلسيلك الذى يبدأ بإشارة تفيد بدء التفاعل بين العائل والمسبب المرضى، كما قد يبدأ تمثيلها - وكذلك إحداث المناعة الجهازية المكتسبة - بالمعاملة بحامض السلسيلك أو أحد نظائره المشابهة له فى الوظيفة، مثل: 2,6-dichloroisonicotinic acid، و benzothiadiazole.

ولقد أوضحت الدراسات أن حامض السلسيلك ازداد تركيزه من حوالى 0.01 ميكروجرام/ جم إلى حوالى 10 ميكروجرام/جم فى أوراق التبغ التى أصيبت بفيرس موزايك التبغ، وذلك بعد 72 ساعة من الحقن بالفيرس. وخلال المدة ذاتها ازداد تركيز حامض السلسيلك فى الأوراق غير المعدية بالفيرس من نفس النبات إلى 0.1 ميكروجرام/جم. وقد شهدت الأوراق ذاتها (المعدية وغير المعدية) زيادة فى تمثيل الرنا الرسول للـ PRP (عن Strang 1993).

3 - حامض الجاسمونك مع إشارات من الإثيلين:

اكتشف مسار آخر يقود إلى المناعة المكتسبة الجهازية - مستقل عن المسار السابق - وتستحثه البكتيريا المنشطة للنمو التى تعيش فى محيط الجذور: Pseudomonas fluorescence، وهو يُستَحث عن طريق حامض الجاسمونك jasmonate وإشارات من الإثيلين (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

مثال: المناعة المكتسبة الجهازية ضد مسبب مرض الندوة المتأخرة فى البطاطس

أظهرت عديد من الدراسات أن استجابة فرط الحساسية فى بعض حالات المقاومة لا تكون مصاحبة بتغيرات كيميائية حيوية عند موقع الإصابة فقط، ولكن أيضًا فى مواقع أخرى بعيدة من النبات؛ وفى البطاطس .. يمكن حث المقاومة المكتسبة الجهازية للندوة المتأخرة للظهور بالمعاملة بمسببات مرضية متنوعة، منها: P. infestans، و Pseudomonas syringae.

وفى دراسة استخدمت فيها مجموعة من أصناف البطاطس احتوت على مقاومة متخصصة أو كانت خالية منها، تم تعريض الورقتين السفليتين للإصابة بسلالات قادرة على إحداث الإصابة virulent وأخرى غير قادرة avirulent من الفطر P. infestans، ثم بعد فترات متفاوتة بعد ذلك عُرِّضت النباتات (النبات بأكمله) للإصابة بسلالة virulent من الفطر. وقد تبين فى جميع التوافقات المختبرة من العائل والطفيل أن الحقن الأولى بالفطر أحدث نقصًا معنويًّا فى شدة أعراض الإصابة المرضية بعد الحقن الثانى. ويستدل من ذلك على أن حث المناعة المكتسبة الجهازية SAR فى البطاطس هو أمر مستقل عن التركيب الوراثى لكل من النبات والمسبب المرضى. وعلى الرغم من ملاحظة ظهور اختلافات كمية فى شدة الـ SAR، فإن ذلك كان مرده - غالبًا - إلى تباين فى كفاءة الجراثيم السابحة للفطر؛ الأمر الذى أحدث تباينًا فى كفاءة الإصابة الأولية.

وتأكيدًا لما أسلفنا بيانه، وجد أن حقن أوراق البطاطس (حقن فعلى باستعمال مِحقنة) بمعلق من البكتيريا Pseudomonas syringae pv. maculicola (وهى التى لا تعد البطاطس من عوائلها) أدى إلى ظهور سريع لبقع متحللة، مع نقص جوهرى فى شدة الإصابة بالفطر P. infestans لدى استخدامه فى عدوى النباتات بعد 2-4 أيام من حقنها بالبكتيريا.

ولقد لوحظ أن نباتات البطاطس التى تتراكم فيها البروتينات ذات الصلة بالأحداث المرضية PR proteins - والتى تظهر بها حالة مناعة مكتسبة جهازية SAR - أنه يتراكم بها - موضعيًّا وجهازيًّا - رنا رسول mRNAs يشفر لتمثيل إنزيمات شيتينيز chitinases، وجلوكانيز β-1,3-glucanases حامضية (class II) وقاعدية (class I) استجابة للإصابة الأولية. وكان تراكم الـ mRNA والبروتين فى الأوراق العلوية غير المحقونة متوافقًا مع شدة ظهور حالة الـ SAR، وهى التى ظهرت بعد 2-4 أيام من الحقن الأولى. هذا .. ويبدو أن الـ chitinases والـ β-1,3-glucanases تعد مناسبة لتقدير شدة الـ SAR.

ونظرًا لأن P. infestans لا يحتوى على الشيتين chitin فى جدره الخلوية، فإنه لا يعتقد بأن إنزيمات الشيتينيز chitinases التى يُستحث إنتاجها تلعب دورًا مباشرًا فى الحد من نمو هذا الفطر (إلا إذا كان لها دورًا آخر)، ويفترض أن بروتينات أخرى وآليات أخرى هى المسئولة عن تثبيط الفطر P. infestans فى حالات الـ SAR. ولقد أمكن بالفعل عزل عديد من الـ cDNAs التى تشفر لبروتينات يحتمل أن يكون لها دور دفاعى.

وإلى جانب ما تقدم بيانه فإن حالة الـ SAR تكون مُصاحَبة - كذلك - بزيادة فى الـ cDNAs التى تشفر لتمثيل عديد من الإنزيمات التى تشترك فى عمليات الأيض العادية والبناء الضويى (مثل: aldolase، و glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase، و ribulose,1,5-bisphosphate carboxylase، و chlorophyll-a/b-binding protein، و ferrodoxin، وغيرهم)؛ مما يدل على أن تنشيط الدفاع النباتى يتطلب طاقة إضافية وطلبًا على بادئات يُحصل عليها من المسارات الأيضية العادية لأجل تمثيل الفيتوألاكسينات وغيرها (عن Kombrink & Schmelzer 2001).

المقاومة النشطة: مثيرات الاستجابات الدفاعية

فى بداية العهد باكتشاف إنتاج النباتات للفيتوألاكسينات استجابة للتعرض للإصابات المرضية كان الحديث عن "حث induction" النباتات على إنتاج الفيتوألاكسينات، إلاّ أن ذلك المصطلح سرعان ما توقف استخدامه لصالح مصطلح "مثيرات elicitors" إنتاج الفيتوألاكسينات (أو أى استجابات نباتية دفاعية أخرى)؛ ذلك أن مصطلح "حث" يعنى - ضمنًا - عملية إطلاق جينات - كانت موقوفة عن العمل repressed - للعمل؛ الأمر الذى لم يكن ثابتًا ومعروفًا - بعد - فى بداية العهد باكتشاف الفيتوألاكسينات. وقد استخدم مصطلح الـ "مثيرات" للدلالة على كل ما يثير بدء أى نشاط دفاعى، وليس فقط إنتاج الفيتوألاكسينات. وعلى الرغم من التطبيق الواسع - حاليًّا - لمصطلح "الإثارة" elicitation، فإن إطلاق عمل الجينات الموقوفة عن العمل gene derepression هو - كما هو معلوم يقينًا حاليًّا - الأمر الطبيعى اللازم ليس فقط لبدء تلك الاستجابات الدفاعية، وإنما لاستكمالها كذلك.

وتعرف حاليًا فئتان من المثيرات: المثيرات غير الحية abiotic، والمثيرات الحية (أو ذات الأصول الحية) biotic؛ وكلاهما يُحدث تحللاً محدودًا يبدو مماثلاً - إن لم يكن مطابقًا - لاستجابة فرط الحساسية (عن Strange 1993).

وقد تناول Ebel & Scheel (1992) - بالتفصيل - موضوع المثيرات elicitors التى تستحث الاستجابات الدفاعية النباتية ضد المسببات المرضية التى تهاجمه.

المثيرات غير الحية

تعد كثيراً من العوامل الفيزيائية والكيميائية - التى يمكن أن تسبب أذى للنباتات - مثيرات فعالة، والأمثلة تتضمن: أملاح العناصر الثقيلة، والأشعة فوق البنفسجية، والتجمد الجزئى، والمركبات التى تُقحَم على الدنا، والأصول الكيميائية الحرة free radicals، وجميعها تحدث اضطرابات فى الأغشية الخلوية، وتزيل الكوابح من على الجينات الموقوفة عن العمل gene derepression (عن Strange 1993).

المثيرات ذات الأصول الحية

عرفت عديدًا من المثيرات فى عديد من الكائنات الحية، وقد قسمت تبعًا لتركيبها الكيميائى، كما يلى:

1 - عديدات التسكر

تعد عديدات التسكر polysaccharides المتحصل عليها من الجدر الخلوية للفطريات - مثل Phytophthora megasperma f. sp. sojae - من المثيرات، وتبين أن أكثرها فاعلية فى حث إنتاج الفيتوألاكسينات فى فول الصويا - التى تصاب بذلك الفطر - هو المركب hepta β glucoside.

كذلك يعد الشيتين chitin القليل البلمرة (الـ oligomers) مثيرًا فعّالاً لِلَّجننة فى القمح.

2 - الجليكوبروتينات

أمكن عزل جليكوبروتين glycoprotein من الفطر Puccinia graminis f. sp. tritici كان فعالاً كمثير لِلَّجننة المصاحبة لفرط الحساسية فى القمح. ويتكون غالبية الجزء الكربوهيدراتى من هذا الجليكوبروتين من المانّوز mannose والجالاكتوز galactose.

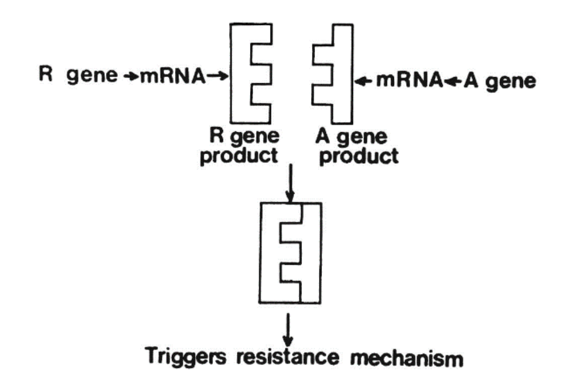
3 - الببتيدات والإنزيمات

كان أول المثيرات المكتشفة هو الـ monilicolin A، وهو عبارة عن بولى ببتيدة polypeptide من الفطر Monilinia fructicola المسبب لمرض العفن الطرى فى ثمار الفاكهة ذات النواة الحجرية. وقد حث هذا المركب إنتاج الفيتوألاكسين: phaseollin فى الفاصوليا (التى لا تعد من عوائل الفطر) عند تركيز شديد الانخفاض بلغ 10-9 مولار.

كذلك فإن لبعض الإنزيمات نشاط كمثيرات. فمثلاً .. تبين أن إنزيم البولى جالاكتيرونيز polygalacturonase المتحصل عليه من الفطر Rhizopus stolonifer يستحث إنتاج الفيتوألاكسين: casbene فى نبات الخروع Ricinus communis. وعلى الرغم من أن الإنزيم يفقد فاعليته بالحرارة ولا يصلح كمثير لإنتاج الفيتوألاكسين، فإن معاملته حراريًّا - بعد أن يكون قد سُمح له بالتفاعل مع الجدر الخلوية للعائل -

يترتب عليه إنتاج مثير آخر لا يتأثر بالحرارة عبارة عن خليط من الـ **oligogalacturonides**. ولقد تبين أن أفضل السلاسل الجالاكتيرونيدية - كمثيرات - هى التى تتكون من 13 **galacturonide residues**، بينما لم تكن تلك التى يقل فيها العدد عن تسع فعالة.

هذا .. ويعتقد بتفاعل نواتج جينات المقاومة مع نواتج جينات عدم الضراوة معًا لإنتاج مركبات (يطلق عليها اسم **triggers**) هى التى تبدأ عن طريقها التفاعلات الدفاعية (شكل 7-31).



شكل (7-31): تفاعل ناتج جين المقاومة (R gene) مع ناتج جين عدم الضراوة (A gene) لإنتاج الـ trigger الذى يُطلق التفاعلات التى تؤدى إلى المقاومة.

4 - الأحماض الدهنية

أمكن عزل الحامضين الدهنيين **arachidonic acid** (شكل 7-32)، و **eicosapentaenoic acid** من الفطر **Phytophthora infestans** واكتشاف كونهما مثيرات لإنتاج الفيتوألاكسينات التربينية **terpenoid phytoalexins** فى البطاطس (عن **Strange 1993**).

$$CH_3(CH_2)_3(CH_2CH{=}CH)_4(CH_2)_3COOH$$

شكل (7-32): الـ arachidonic acid الذى ينتجه الفطر Phytophthora infestans الذى يعد من مثيرات إنتاج الفيتوألاكسينات التربينية فى البطاطس.

علاقة منظمات النمو النباتية بمقاومة الأمراض

الأوكسينات

من المعروف أن الأوكسينات تقلل عمومًا من نمو الفطريات، حيث تكون المقاومة مرتبطة - عادة - بمستوى عال من الأوكسينات. وقد تنتج الفطريات المتطفلة الإنزيم IAA oxidase الذى يعمل على تحليل الأوكسين إندول حامض الخليك. ولكن قد تلعب بعض البولى فينولات polyphenpls مثل: حامض الكافيك caffeic acid، وحامض الكلوروجينك chlorogenic acid - وهى مثبطات قوية لإنزيم IAA oxidase - دورًا هامًّا فى وقف عمل هذا الإنزيم الذى يفرزه الطفيل، وبذا .. يصبح النبات مقاومًا. وقد تلعب البولى فينولات دورًا آخر فى المقاومة من خلال أكسدتها للتربتوفان tryptophane إلى إندول حامض الخليك.

السيتوكينينات

من المعلوم أن السيتوكينينات لديها القدرة على تثبط تفاعل فرط الحساسية؛ لتتغير الاستجابة إلى قابلية للإصابة. كذلك يعتقد بأن قدرة السيتوكينينات على تأخير شيخوخة الأوراق والأزهار المفصولة ربما يرجع إلى تثبيطها لعملية الأكسدة الزائدة للدهون التى تلاحظ أثناء مراحل الشيخوخة. ولقد أوضح الكثيرون أن تفاعل فرط الحساسية يكون مصاحبًا بالأكسدة الزائدة للدهون. وقد درس Beekman & Ingram (1994) تأثير الكينيتين: 6-furfurylaminopurine على فرط حساسية درنات البطاطس للفطر Phytophthora infestans، وقدَّر التفاعل بين العائل والطفيل من خلال قياسات: موت الخلايا بفرط الحساسية (التسرب الأيونى)، والدفاعات الثانوية (تراكم الفيتوألاكسين)، والنمو الفطرى فى النسيج النباتى (كتلة النمو الفطرى مقدرة باختبار الـ ELISA)، وتبين من هذه الدراسة أن الكينيتين ثبط التسرب الأيونى عند تركيز 15-240 ميكرومول، وقلل تراكم الفيتوألاكسينات عند تركيز 120-240 ميكرومول، واستحث القابلية للإصابة عند تركيز أعلى من 60 ميكرومول.

ويلعب الكاينتين kinetin، والـ benzimidazole دورًا فى استمرار مقاومة أوراق النجيليات للأصداء بعد فصلها عن النباتات. ولا تنمو فطريات البياض الدقيقى على أوراق الخيار الطافية على محلول من الكاينتين برغم قابلية هذه الأوراق للإصابة بعيدًا عن منظم النمو.

ومن ناحية أخرى .. وجد Kochba & Samish (1971) أن معاملة بادرات الخوخ المقاومة للنيماتودا Meloidogyne javanica بالكاينتين أو نفثالين حامض الخيك NAA أفقدها مقاومتها.

الجبريللين

أدت معاملة نباتات الطماطم بحامض الجبرلليك إلى زيادة قابليتها للإصابة بذبول فيرتيسيلم، بينما أدت المعاملة بالـ CCC - وهو مضاد للجبريللين - إلى زيادة المقاومة.

حامض الأبسيسك

يعد حامض الأبسيسك abscisic acid أحد الهرمونات التى تشارك فى التفاعلات بين النباتات والمسببات المرضية. ولقد تبين أن طفرات الطماطم التى تُظهر مستوى منخفض من حامض الأبسيسك أكثر كثيرًا فى مقاومتها للفطر Botrytis cinerea عن الطماطم العادية غير المطفرة (الطراز البرى). وأدت معاملة الطماطم المطفرة بحامض الأبسيسك إلى استعادة قابليتها للإصابة بالفطر، بينما أدت معاملة الطراز البرى إلى زيادة قابليته للإصابة؛ بمعنى أن حامض الأبسيسك يلعب دورًا رئيسيًّا فى قابلية الطماطم للإصابة بالفطر B. cinerea. وقد أظهرت الدراسات أن حامض الأبسيسك يُعدِّل - سلبيًّا - من مسار الدفاع ضد المسببات المرضية المعتمد على حامض السلسيلك salicylic acid فى الطماطم (Audenaert وآخرون 2002).

ولمزيد من التفاصيل عن الدراسات المبكرة حول دور منظمات النمو فى مقاومة الأمراض .. يراجع Sequira (1963).

طبيعة حالات الإفلات من الإصابة

إن الإفلات من الإصابة بالمرض قد ترجع إلى أسباب بيئية لا دخل للمقاومة الوراثية بها (مثل الزراعة المبكرة أو المتأخرة، والتغيرات الحادة فى الظروف البيئية - وخاصة درجة الحرارة والرطوبة النسبية - بما لا يتناسب وحدوث الإصابة)، أو قد ترجع إلى صفات موروثة فى النبات، مثل طبقة الأديم السميكة، والقنابات المحكمة الغلق، والنضج فى وقت محدد لا يناسب الإصابة (عن Chahal & Gosal 2002).

ومن بين حالات الإفلات من الإصابة المعروفة جيدًا، ما يلى:

1 - عدم تعرض العضو النباتى - الذى تحدث من خلاله الإصابة - للمسبب المرضى، كما فى أصناف الشعير التى لا تتفتح أزهارها، مما يؤدى إلى عدم إصابتها بالفطر Ustilago nuda المسبب لمرض التفحم السائب، الذى يصيب النباتات أثناء تفتح أزهارها.

كذلك لا يتمكن الفطر Claviceps purpurea - المسبب لمرض الإرجوت ergot فى النجيليات - من إصابة أصناف القمح والشعير التى تبقى أزهارها مغلقة إلى حين إنتهاء التلقيح والإخصاب. ففى مثل هذه الأصناف .. لا تتوفر لجراثيم الفطر الفرصة لدخول الأزهار وإصابة الميسم فى المرحلة التى يكون فيها قابلاً للإصابة. ويصعب أن نتخيل إمكانية إنتاج الفطر لسلالات فسيولوجية جديدة قادرة على التغلب على هذا الوضع. ومع ذلك .. فإنه يمكن إحداث الإصابة بالإرجوت - فى هذه الأصناف - بحقن جراثيم الفطر فى الأزهار المغلقة وقت حدوث التلقيح، أو قرب حدوثه فيها.

2 - يُسهِم النمو الورقى القائم erect فى النجيليات فى الإفلات من الإصابة بالبياض الدقيقى، حيث وجد أن أعداد جراثيم الفطر Erysiphe graminis المسبب للمرض التى تسقط على نباتات الشعير ذات الأوراق القائمة تكون أقل من الأعداد التى تسقط على النباتات ذات الأوراق المتدلية prostrate. ويحدث نفس الشئ بالنسبة للإصابة بالفطر Puccinia striiformis المسبب لمرض الصدأ الأصفر (المخطط) فى القمح (عن Russell 1978).

3 - تعد حالة الـ Klendusity - هى الأخرى - نوعًا من الإفلات من الإصابة، لأن النبات الـ Klendusic هو - فى واقع الأمر - نبات قابل للإصابة. وقد اقتصر استخدام هذا المصطلح على وصف حالات الهروب من الإصابة بحشرات معينة، أو بفيروسات معينة تنقلها الحشرات. ويمكن وصف هذه الحالة بأنها إفلات صنف، أو تركيب وراثى معين من الإصابة عندما يتواجد مع أصناف، أو تراكيب وراثية أخرى فى نفس الموقع، لأن الآفة الحشرية، أو الحشرة الناقلة للفيرس تفضل الأصناف، أو التراكيب الوراثية الأخرى عليه. أما إذا وجد هذا الصنف أو التركيب الوراثى بمفرده فإنه يصاب بصورة عادية.

يتبين مما تقدم أن ظاهرة الـ Klendusity ليس لها فائدة تطبيقية، كما أنها قد تقود المربى إلى نتائج خاطئة عند تقييمه لمجموعة من الأصناف، أو التراكيب الوراثية فى نفس الموقع فى آن واحد، إذ يلزم فى هذه الحالة إحداث العدوى الصناعية لكل منها منفردًا.

ولمزيد من التفاصيل عن حالات الهروب من الإصابة .. يراجع Agrios (1980).

طبيعة المقاومة فى حالات مرضية خاصة

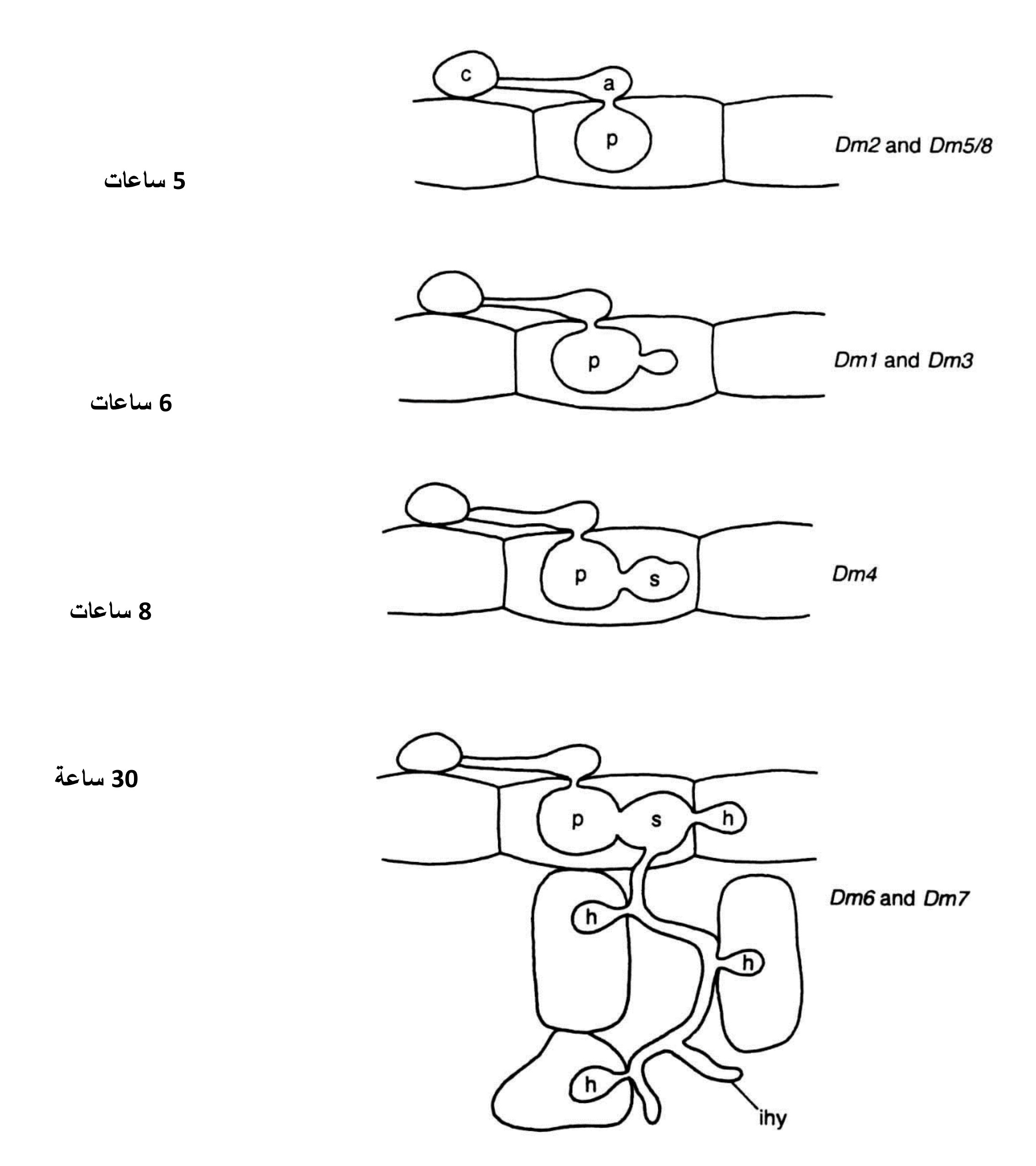
طبيعة المقاومة فى بعض الأمراض الفطرية

البياض الزغبى فى الخس

تتباين جينات المقاومة للفطر Bremia lactucae - مسبب مرض البياض الزغبى فى الخس - فى المدة التى تمر بين اختراق الفطر للعائل وحدوث الضرر الذى لا رجعة فيه للأغشية الخلوية (شكل 7-33)، وهى حالة فرط الحساسية التى تقود إلى حصر الفطر فى مكانه وعدم استطاعته استمرار التقدم فى إصابة النبات. وكلما ازداد التبكير فى حدوث التلف بالأغشية الخلوية كلما كانت المقاومة أكثر فاعلية.

عفن الأوراق فى الطماطم

لا يصيب الفطر Cladosporium fulvum سوى الطماطم، حيث يسبب لها مرض عفن الأوراق leaf mould. بعد اختراق الفطر للعائل من خلال الثغور فإن الغزل الفطرى يستعمر المسافات التى توجد بين خلايا النسيج الوسطى، حيث يبقى محصورًا فيها طوال الجزء الرئيسى من دورة حياة الفطر. وخلال المراحل المبكرة للإصابة لا يُحدث الفطر أى ضرر منظور لأنسجة الورقة ويحصل على غذائه غالبًا من المسافات البينية التى توجد بين الخلايا (الـ apoplasm)، حيث لا يكوّن الفطر خلال تلك المرحلة أى تراكيب خاصة لتغذيته مثل الممصات haustoria. وفى المقابل .. فإنه فى التفاعلات غير المتوافقة يكون النمو الفطرى مقيدًا وتظهر البقع المتحللة سريعًا بأوراق أصناف الطماطم المقاومة.



شكل (7-33): توقيتات حدوث الضرر الذى لا رجعه فيه للأغشية الخلوية فى حالات الجينات المختلفة لمقاومة الفطر Bremia lactucae المسبب للبياض الزغبى فى الخس، وذلك بعد اختراق الفطر للعائل. c = Conidiospragium، و a = appresorium، و p = primary vesicle، و s = secondary vescicle، و h = haustorium، و ihy = intercellular hypha (عن Monsfield 1997).

هذا .. ويعرف فى الطماطم ما لا يقل عن 11 جينًا تتحكم فى المقاومة للفطر C. fulvum. ولقد نقل بعضها، مثل الجينات: Cf-2، و Cf-3، و Cf-4، و Cf-5، و Cf-9 إلى صنف الطماطم Moneymaker (الذى لا يحتوى على أى جينات لمقاومة الفطر وهى الحالة التى تعطى الرمز Cf-0) فى برامج تلقيحات رجعية متوازية؛ بهدف إنتاج سلالات من الصنف ذات أصول وراثية متشابهة isogenic lines تختلف فى جينات المقاومة التى تحملها. ولقد أظهرت استجابة مختلف سلالات الصنف لسلالات مختلفة من الفطر أن التفاعل بينهم تنطبق عليه علاقة الجين بالجين، إلا إنه لم يمكن إثبات وجود جينات سائدة مفردة لعدم الضراوة نظرًا لأنه لا يعرف لهذا الفطر دورة جنسية.

ونظرًا لأن نمو الفطر يبقى محصورًا فى المسافات التى بين الخلايا، فقد بُحِث عن أى مثيرات لتفاعلات عدم التوافق المتخصصة فى تلك المسافات التى يستعمرها الفطر فى أوراق الطماطم، وأمكن تنقية اثنتان من البولى ببتيدات polypeptides - أعطيتا الرمزين AVR4، و AVR9 - كانتا متخصصتين فى حث تفاعل فرط الحساسية فى نباتات الطماطم الحاملة للجينين Cf-4، و Cf-9 على التوالى. وبناء على تتابعات الأحماض الأمينية فى كل من AVR4، و AVR9 أمكن تصميم سلاسل النيكليوتيدات التى يمكن أن تشفر لهما، وهى التى استخدمت فى عزل الـ cDNA الخاص بهما وعمل genomic clones لهما. وبذا .. أصبح Avr4، و Avr9 أول جينات فطرية لعدم الضراوة يتم عزلها (عن Knogge & Marie 1997).

طبيعة المقاومة فى بعض الأمراض البكتيرية

اكتشف الجين Pto المسئول عن مقاومة الطماطم البرية Lycopersicon pimpinellifolium للبكتيريا Pseudomonas syringae pv. tomato المسببة لمرض النقط البكتيرية bacterial speck فى ثلاثينيات القرن العشرين، وأعقب ذلك إدخاله فى عديد من الأصناف التجارية، واستخدم على نطاق واسع منذ السبعينيات فى مقاومة هذا المرض فى مختلف أنحاء العالم، دون أن تظهر أى حالة لكسر مقاومة هذا الجين حتى تحت الظروف المساعدة على حدوث إصابة شديدة.

ولقد أمكن عزل الجين Pto وتبين أنه يشفر لـ serine-threonine protein kinase يتواجد فى السيتوبلازم. ووجد أن الأساس الجزيئى لتعرف الجين على الجين (جين المقاومة وجين عدم الضراوة) فى تلك الحالة (بين الطماطم المقاومة والبكتيريا P. syringae pv. tomato) هو التفاعل الفيزيائى المباشر للـ Pto kinase مع أى من بروتينات البكتيريا الممرضة المؤثرة، وهما: AvrPto، و AvrPtoB؛ فبعد التعرف على أى منهما، فإن الـ Pto kinase يعمل فى تناغم مع Prf (وهو بروتين يحتوى على leucine-rich repeat) لتنشيط المسارات الأيضية المتعددة التى تقود إلى المقاومة (عن Pedley & Martin 2003).

العفن الطرى البكتيرى فى البطاطس

تفرز البكتيريا المسببة لمرض العفن الطرى البكتيرى إنزيم الـ pectinase عند إصاباتها لدرنات البطاطس. هذا الإنزيم يدفع النبات لزيادة نشاط إنزيم الـ polyphenoloxidase الذى يؤكسد الفينولات، وتظهر الفينولات المؤكسدة بلون أسود وتعمل على وقف انتشار المرض. وتتوقف المقاومة على سرعة تكون هذه الفينولات المؤكسدة.

كما تفرز البكتيريا إنزيمات dehydrogenases تنمع أكسدة الفينولات، أى تمنع النبات من تكوين المواد المسئولة عن المقاومة؛ وعليه فإن نشاط إنزيمات الـ dehudrogenases هو أحد الأسس الهامة فى ضراوة البكتيريا، وفى تغلبها على مقاومة العائل. (عن Király وآخرين 1974).

طبيعة المقاومة للفيروسات

سبق أن أشرنا - فى هذا الفصل - إلى عديد من الأمثلة التى تمس طبيعة المقاومة للفيروسات، ونضيف - فيما يلى - بعض الجوانب التى تتعلق بطبيعة مقاومة الفيروسات على وجه التخصيص.

إنتاج مضادات الفيروسات

كان Chada & MacNeil (1969) هما أول من أشارا إلى إنتاج النباتات لمواد مضادة للفيروسات Anti Viral Principles (اختصارًا: AVPs)، وكانت دراساتهما على طماطم مصابة جهازيًّا بفيرس موزايك التبغ. وقد وجد الباحثان أن خلط الـ AVPs بفيرس موزايك التبغ المستعمل فى عدوى الطماطم، أو معاملة النباتات بها قبل عدواها بالفيرس أدى إلى خفض شدة إصابة النباتات بالفيرس. وقد بدأ إنتاج الـ AVPs فى المراحل المبكرة للإصابة، ومع الزيادة فى إنتاجها انخفض تركيز الفيرس فى النبات تدريجيًّا، وضعفت فاعليته فى إحداث إصابات جديدة. ولم يكن إنتاج الـ AVPs مصاحبًا بأية أعراض لفرط الحساسية.

كذلك عزلت مركبات مماثلة للـ AVPs من عصير نباتات Nicotiana glutionsa مصابة بفيرس موزايك التبغ. ومن الأنصاف الطرفية - غير المعدية - لأوراق نباتات Datura strammonium عندما لقحت أنصافها القاعدية بفيرس موزايك التبغ، أو بفيرس تحلل التبغ Tobacco Necrosis Virus.

كان أعلى إنتاج للـ AVPs من نباتات الطماطم المصابة جهازيًا بفيرس موزايك التبغ فى حرارة ْ26م، بينما لم تنتج هذه المضادات الفيروسية فى حرارة ْ32م وهى درجة غير مناسبة لتكاثر الفيرس، كما وجد أن الـ AVPs المنتجة فى نسيج نباتى تنتقل إلى الأنسجة الأخرى حيث يمكن أن تؤثر على الإصابة بفيرس موزايك التبغ فيها.

وتبين لدى مقارنة نباتات الطماطم المقاومة لفيرس موزايك التبغ بالنباتات القابلة للإصابة تشابه الـ AVPs مع الفيتوألاكسينات من حيث النواحى التالية:

1 - يتكون كلاهما بعد التفاعل بين العائل والمسبب المرضى.

2 - يتكون كلاهما فى الأصناف المقاومة والأصناف القابلة للإصابة، لكن بسرعة أكبر فى الأصناف المقاومة.

3 - يكون التركيز النهائى لأى منهما أعلى فى الأصناف المقاومة - مما فى الأصناف القابلة للإصابة - بدرجة تكفى لوقف تكاثر المسبب المرضى (Nazeem 1973).

مقاومة الانتقال البذرى للفيرس

من بين حالات المقاومة المعروفة لانتقال الفيرس عن طريق البذور، ما يلى:

1 - جين متنحٍ يتحكم فى مقاومة الشعير للانتقال البذرى لفيرس موزايك الشعير المخطط BSMV.

2 - مقاومة الانتقال البذرى لفيرس موزايك الخس LMV فى الخس.

مقاومة الحركة الجهازية للفيرس فى النبات

ترتبط بعض حالات المقاومة للفيروسات بضعف قدرة الفيرس على الحركة الجهازية فى النبات، ومن أمثلة ذلك المقاومة لحركة فيرس التفاف أوراق البطاطس PLRV فى لحاء البطاطس، والمقاومة لحركة فيرس تقزم وموزايك الذرة MDMV فى الجهاز الوعائى للذرة (عن Hull 2002).

مقاومة الكائنات الناقلة للفيروسات

يعنى بذلك مقاومة النباتات لانتقال الفيرس عن طريق الكائن الناقل له Vector، برغم أن النبات نفسه قد يكو قابلاً للإصابة بالفيرس. ومن أمثلة حالات المقاومة للكائنات الناقلة للفيروسات ما يلى:

1 - مقاومة المنّ:

تتوفر اختلافات كبيرة بين النباتات فى مقاومتها للمن الناقل للفيروسات، وتعتمد هذه المقاومة على عديد من العوامل، منها ما يلى:

أ - منع المن من الطيران حتى لا يكرر إصابته لنباتات جديدة، ويتحقق ذلك بالأسطح النباتية اللزجة.

ب - تربية أصناف لا تمكن المن من الوصول على اللحاء، فيموت جوعًا، إلا أن ذلك قد يحفزها على الطيران إلى نباتات أخرى للبحث عن الغذاء، الأمر الذى قد يزيد من انتشار الفيرس فى الحقل.

جـ - الاستفادة من التباينات المتوفرة فى ألوان النباتات فى الحد من انجذاب المن للنباتات، إذ إنه أكثر انجذابًا للونين الأصفر والبرتقالى، مقارنة بالدرجات المختلفة للون الأخضر. كما أن النموات النباتية الخضراء التى تغطى الحقل بالكامل أقل جاذبية للمن من الحقول التى يمتزج فيها اللون الأخضر بلون التربة. وبذا .. فإن تربية أصناف سريعة الإنبات والنمو، لتغطى التربة بسرعة ببساط أخضر قد تفيد فى مقاومة المنّ.

د - الاستفادة من شعيرات البشرة التى تؤدى - فى الفاصوليا على سبيل المثال - إلى جرح حشرات المنّ وشل حركتها.

هـ - الاستفادة من التباينات فى الغطاء الشمعى لأوراق وسيقان النباتات، نظرًا لأن بعض أنواع المنّ - مثل منّ الخوخ الأخضر - تفضل الأوراق الشمعية، بينما لا تناسب هذه الطبقة الشمعية أنواعًا أخرى.

و - فى التفاح .. تعيق الأنسجة الاسكليرونشيمية - فى الأصناف المقاومة - وصول حشرة منّ التفاح الصوفى إلى اللحاء.

2 - مقاومة نطاطات الأوراق:

تعد معظم الفيروسات التى تنقلها نطاطات الأوراق circulative - أى تدخل فى الجهاز الدورى للحشرة - بينما القليل منها non-circulative. وقد عرف فى عام 1976 أن نطاطات الأوراق ونطاطات النباتات تنقل إلى النباتات - بالإضافة إلى الفيروسات - كلا من الميكوبلازمات والريكتسيات.

اكتشفت المقاومة فى الأرز لكل من نطاط أوراق الأرز الأخضر green rice leafhopper، وكانت بسيطة وسائدة، ونطاط النبات البنى brown planthopper، ووجد أنه يتحكم فيهما جينان: أحدهما سائد، والآخر متنحٍ (عن Mamorosch 1980).

طبيعة المقاومة للنيماتودا

المقاومة السلبية

إن المقاومة السلبية للنيماتودا - وهى تلك التى تتواجد فى النبات من قبل تعرضه للإصابة النيماتودية - يتحكم فيها عوائق تشريحية، وفسيولوجية، وكيميائية يمكن أن تعيق غزو النيماتودا للنبات وتعطل تطورها.

ويوجد - عادة - نوعان من آليات المقاومة السلبية ضد النيماتودا، كما يلى:

1 - إنتاج النبات لسموم قاتلة للنيماتودا، ومن أمثلة ذلك احتواء سيقان وأوراق وجذور الأسبرجس على جلوكوسيد سام للنيماتودا **Trichodorus cristei**؛ بما يؤدى إلى سرعة تدهور عشائر النيماتودا حول جذور النباتات. كذلك تحتوى جذور النوعين: **Tagetes patula**، و **T. erecta** على الـ **α-terthienyl** ومشتقات للـ **bithienyl** تحد من ازدهار عشائر النيماتودا التابعة للجنسين **Meloidogyne**، و **Pratylenchus**. ويقاوم النوع **Eragrostis curvula** أربعة أنواع من جنس **Meloidogyne** بسبب احتواء جذوره على تركيز عالٍ من الـ **pyrocatechol**.

2 - قد ترجع المقاومة إلى عدم احتواء النبات على المركبات الضرورية للتطور والتكاثر الطبيعى للنيماتودا، أو تحتوى عليها بتركيزات غير كافية؛ مما يؤدى إلى فشل إناث النيماتودا فى الوصول إلى مرحلة النضج.

عدم تلبية النبات لاحتياجات النيماتودا الغذائية

يحتاج عديد من الأنواع النيماتودية إلى خلايا وأنسجة خاصة - فى عوائلها - لأجل استمرار تطفلها وتطورها الطبيعى. وعلى سبيل المثال .. فإن المنتجات الأيضية الجديدة التى تتكون فى الخلايا العملاقة والـ syncytia بأنسجة العائل - كنتيجة للتطفل الممرض - لا غنى عنها للتطور الطبيعى للنيماتودا، وخاصة للأنواع المتطفلة داخليًّا غير المهاجرة. ويؤدى غياب الغذاء المناسب للنيماتودا إلى تعطيل تطورها وزيادة نسبة الذكور إلى الإناث (عن Giebel 1982).

ونجد فى حالة نيماتودا تعقد الجذور .Meloidogyne spp - على سبيل المثال - أن الطور اليرقى الثانى يخترق جذور العائل بالقرب من القمة النامية، ثم تهاجر اليرقة بين الخلايا نحو الميرستيم، ثم فى الأسطوانة الوعائية المتكشفة إلى منطقة تميز الخلايا. ويلى ذلك زيادة الخلايا الجذرية بالأسطوانة الوعائية (التى تكون قريبة من رأس النيماتودا) فى الحجم - استجابة لإشارات من النيماتودا - لتكون خلايا عملاقة، وهى خلايا كبيرة الحجم متعددة الأنوية ونشطة أيضيًّا، تكون مصدرًا للغذاء للطور المتكشف الداخلى التطفل للنيماتودا. ويؤدى الانتفاخ المتزامن لذلك، والانقسام بخلايا القشرة حول النيماتودا إلى تكوين الثآليل أو العقد الجذرية، التى تعد السمة المميزة للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور.

تحصل نيماتودا تعقد الجذور على غذائها من اللحاء عن طريق الخلايا العملاقة، وبعد اكتمال نمو الأنثى - الذى يستغرق عادة ثلاثة أسابيع - يتحرر منها البيض على سطح الجذر فى وسادة جيلاتينية واقية.

ويعد النبات مقاومًا حينما لايّدعم تكاثر النيماتودا فيه.

وحينما تنجذب النيماتودا نحو الجذور وتخترقها، فإنها تبدأ فى الحركة نحو الأسطوانة الوعائية، ويحدث ذلك كله بطريقة واحدة فى كل من النباتات المقاومة والنباتات القابلة للإصابة على حد سواء، هذا إلاّ أن تطور تكوين موقع لتغذية النيماتودا لا يحدث فى النباتات المقاومة، حيث يتكون - بدلاً من الخلية العملاقة - منطقة محددة من الخلايا المتحللة بالقرب من رأس يرقة النيماتودا التى اخترقت الجذر، وذلك بالقرب من الموقع الذى يبدأ فيه تكوين الخلايا المغذية للنيماتودا فى النباتات القابلة للإصابة. وبسبب فشل يرقة مرحلة الانسلاخ الثانى (J2) فى تكوين موقع لتغذيتها فإنها إما أن تموت أو تترك الجذر. هذا وتظهر أولى علامات التحلل - وهو نوع من فرط الحساسية - بعد نحو 12 ساعة من اختراق الـ J2 للجذر، علمًا بأن تفاعل فرط الحساسية لا يحدث أثناء حركة النيماتودا داخل الجذر، ولكن بعد أن تبدأ محاولة تكوين موقع للتغذية منه.

النشاط الإنزيمى للنيماتودا واستجابة النبات لها

إن النيماتودا التى تتطفل على الأنسجة النباتية تحدث أضرارًا ميكانيكية عن طريق رماحها. ويفترض أنها تفرز - كذلك - إنزيمات محللة - من الغدد المريئية - تقوم بتحليل وإذابة الجدر الخلوية؛ لكى تتمكن النيماتودا الداخلية التطفل من الحركة بين الخلايا وداخلها، كما تعمل تلك الإنزيمات كإنزيمات هاضمة لمكونات الخلية الصلبة كى تستعملها النيماتودا.

ولقد أمكن التعرف على عديد من تلك الإنزيمات المحللة، نذكر منها ما يلى:

Alkaline phosphatase	**Pectinmethylestrase**
Amylase	**Acid phosphatase**
Polygalacturonase	**Cellulase**
β-Glucosidase	**Invertase**

β-Galactosidase Pectinase

Proteinase

وتعد إنزيمات السليوليز cellulase، والبروتييز protease، والأميليز amylase هى أكثر الإنزيمات المحللة إفرازًا من مختلف الأنواع النيماتودية. ومن المحتمل أن النشاط الإنزيمى فى النيماتودا يتأثر بنشاط النيماتودا التطفلى. فعلى سبيل المثال .. نجد أن نشاط إنزيم السليوليز فى النيماتودا الداخلية التطفل المتحركة: Pratylenchus penetrans يبلغ سبعة أضعف مثيله فى النيماتودا الداخلية التطفل غير المتحركة: Heterodera trifolii، كما أظهرت نيماتودا الساق Ditylenchus dipsaci نشاطًا لإنزيم السليوليز يزيد بمقدار 28 مرة عن نظيره فى النوع D. myceliophagus الذى يتغذى على الفطريات.

ومن أكثر الإنزيمات النيماتودية المحللة أهمية إنزيمات الـ β-gucosidases، وهى التى قد تؤدى إلى تحرير فينولات حرة من صورتها المرتبطة، علمًا بأن كثيرًا من الفينولات الحرة تعد نشطة بشدة كيميائيًّا وبيولوجيًّا؛ حيث يمكن أن تؤثر مباشرة - أو بعد أن تُعَدَّل بفعل إنزيمات الـ oxidases - على عديد من العمليات الأيضية فى الخلايا. هذا .. وقد يختلف المصدر الأصلى لإنزيمات الـ β-glucosidases؛ فهى قد تفرز بواسطة النيماتودا أو قد يزيد نشاطها فى النبات بعد غزو النيماتودا له. وتتباين تلك الزيادة فى شدتها وفى توزيعها داخل الجذر حسبما إذا كان النبات مقاومًا، أم قابلاً للإصابة. ففى البطاطس القابلة للإصابة بالنمياتودا Globodera rostochiensis يزداد نشاط الإنزيم β-glucosidase فيها بمقدار أربعة أضعاف (ربما فى كل المجموع الجذرى من غير النسيج المصاب فعلاً) وذلك بعد إصابتها، وبالمقارنة .. تكون الزيادة فى نشاط الإنزيم ضئيلة بعد اختراق النيماتودا لها، ولكنها تكون شديدة التركيز عند موقع تغذية النيماتودا فقط. ويعنى ذلك أن الإنزيمات المحللة النيماتودية التى تحطم خلايا العائل ربما تُنَشِّط تمثيل الإنزيمات المحللة النباتية كذلك (عن Giebel 1982).

تفاعل فرط الحساسية

لا يعرف على وجه التحديد ما إذا كان تفاعل فرط الحساسية هو السبب الاساسى فى المقاومة للنيماتودا، أم إنه سبب ثانوى لذلك، علمًا بأنه تحدث تغيرات كيميائية أخرى ترتبط بالمقاومة؛ فمثلاً .. يزداد نشاط الإنزيم phenyl ammonia lyase فى جذور الطماطم المقاومة فى خلال 12 ساعة من اختراق يرقات النيماتودا لها، علمًا بأن هذا الإنزيم يزداد نشاطه - كذلك - فى عديد من حالات المقاومة ضد مسببات مرضية أخرى. كذلك أمكن عن طريق تقنية الـ PCR عزل رنا متنوع من جذور الطماطم المقاومة بعد 12 ساعة من عدواها بالنيماتودا، لكن لم تثبت علاقة أى منها بخاصية المقاومة للنيماتودا (عن Williamson 1998).

دور الفينولات فى تفاعلات النيماتودا مع النبات

يعتقد بوجود أربعة أنواع من التفاعلات بين النيماتودا وعوائلها تلعب فيها الفينولات دورًا، كما يلى:

1 - التلون البنى والتحلل الواسع البطئ فى النباتات القابلة للإصابة بالنيماتودا المتحركة فى الجذور.

2 - التلون البنى السريع وظهور تحلل موضعى فى النباتات المقاومة للنيماتودا المتحركة.

3 - تثبيط إنزيم IAA-oxidase؛ الأمر الذى قد يناسب تراكم الأوكسين، ومن ثم تكوين الخلايا العملاقة وتميزها فى النباتات القابلة للإصابة بالنيماتودا الداخلية التطفل غير المتحركة.

4 - تنشيط إنزيم IAA-oxidase؛ الأمر الذى يناسب تحلل الأوكسين وظهور تحللات فى النباتات المقاومة للنيماتودا الداخلية التطفل غير المتحركة.

وعلى سبيل المثال .. وجد أن الجلوكوسيد أميجدالين **amygdaline** فى جذور الخوخ يتحلل بواسطة إنزيم **β-glucosidase** الذى تفرزه النيماتودا **Pratylenchus penetrans** إلى حامض الهيدروسيانيك **hydrocyanic acid** والبنزالدهيد **benzaldehyde**، وهما مركبان مؤذيان لكل من النيماتودا والنبات، ويتسببان فى تلون الأنسجة التى تغزوها النيماتودا باللون البنى ثم موتها. وتتناسب سرعة موت الأنسجة طرديًّا مع تركيز الأميجدالين بها قبل الإصابة بالنيماتودا.

ويعتقد بأن وجود حامض الكلوروجنك **chlorogenic acid** هو سبب التلون البنى وتفاعل المقاومة فى كل من النوع **Nicotiana repanda** وصنف الطماطم نيمارد ضد **Meloidogyne incognita** (عن **Giebel 1982**).

التقسيم العام لطبيعة المقاومة للنيماتودا

تتعدد الوسائل التى تقاوم بها النباتات النيماتودا كما يلى:

1 - المقاومة للاجتياح Resistance to Invation، أو الاختراق Penetration:

ربما لا يمكن للنيماتودا - فى حالات خاصة - اجتياح جذور النباتات المقاومة بنفس الأعداد التى تجتاح بها جذور النباتات القابلة للإصابة، ولكن تلك حالات شاذة، ففى أغلب الأحيان تجتاح النيماتودا جذور النباتات المقاومة بنفس الكثافة التى تجتاح بها جذور النباتات القابلة للإصابة، ثم تظهر الفروق بينهما بعد ذلك. فبعد أيام قليلة من ذلك الاجتياح .. تبدأ النيماتودا التى اجتاحت جذور النباتات القابلة للإصابة فى تكوين خلايا عملاقة، وتكمل دورة حياتها وتتكاثر، بينما تتناقص أعداد النيماتودا التى اجتاحت جذور النبات المقاومة، ولا يمكنها التكاثر فيها وتموت، أو قد تبرح الجذور إلى التربة مرة أخرى.

2 - المقاومة للإصابة Resistance to Infection:

أوضحت الدراسات التى أجريت على عديد من أصناف وسلالات فول الصويا المقاومة والقابلة للإصابة بثلاثة أنواع من نيماتودا تعقد الجذور (Meloidogyne spp.) أن جميع الحالات التى يوجد فيها توافق تام بين العائل والنيماتودا تشترك معًا فى صفات معينة للخلايا العملاقة التى تتكون بها، فهى تكون كبيرة، وذات جدر سميكة ونوايا عديدة وفجوات قليلة.

أما الحالات التى لا يظهر فيها ذلك التوافق بين العائل والنيماتودا (حالات المقاومة) .. فإنها تأخذ طابعًا مختلفًا، كما تختلف - فيما بينها - عن حالة التوافق التام (حالة القابلية للإصابة) التى سبق بيانها. ففى بعض الحالات .. تموت الخلايا حول اليرقات سريعًا بعد اجتياحها للنبات، وفى حالات أخرى .. تكون الخلايا العملاقة صغيرة، وتظهر بها محتويات خلوية غير طبيعية، وفى حالات ثالثة .. تكون الخلايا العملاقة مكتملة التكوين، ولكن يكون فيها السيتوبلازم ممتلئًا بفجوات كبيرة الحجم لا ترى أبدًا فى الحالات المتوافقة.

يستدل من الملاحظات السابقة على أن عدة جينات قد تتفاعل معًا خلال دورة حياة النيماتودا، وأن المقاومة قد تنتج من تفاعل جينات فى النبات والطفيل تؤثر فى أى من مراحل تكوين الخلايا العملاقة. كما قد توجد جينات تؤثر فى اجتذاب النيماتودا واختراقها لجذور العائل كذلك.

3 - تمثيل مركبات مضادة للنيماتودا بعد اختراقها للعائل:

برغم اكتشاف تمثيل نباتات الفاصوليا لمركب مثبط للنيماتودا Pratylenchus scribneri بعد اختراقها لجذور النبات، إلا أنه لا يبدو شيوع هذا النظام للمقاومة ضد النيماتودا فى النباتات. وتعرف حالات تكوّن فيها خلايا العائل حاجزًا من الخلايا غير المنفذة للماء والسوائل حول النيماتودا أثناء موتها.

4 - تواجد مركبات سامة للنيماتودا قبل اختراقها للعائل:

تحتوى بعض النباتات المقاومة للنيماتودا على مركبات ضارة لها، فتوجد الفينولات بتركيزات عالية فى النباتات المقاومة. وتقاوم بعض أنواع القطيفة marigold نيماتودا تقرح الجذور .Pratylenchus spp وبعض الأنواع النيماتودية الأخرى باحتواء أنسجتها على مركبين سامين للنيماتودا؛ هما: alpha-terthienyl، و bi-thienyl، حيث يؤديان إلى قتل النيماتودا بمجرد اختراقها للجذور. ومن بين 175 نوعًا من العائلة المركبة تم تقييمها لمقاومة النيماتودا .P penetrans .. كانت المقاومة فى 70 نوعًا منها مرتبطة باحتوائها على مركبات سامة للنيماتودا. وتحتوى جذور الأسبرجس على مركب جليكوسيدى سام للنيماتودا، كما اكتشفت مركبات مماثلة فى بعض الصليبيات، وفى بعض أصول الحمضيات. ومما يؤدى إلى شيوع وجود مثل هذه المركبات فى النبات أن إضافة البقايا النباتية - لعديد من النباتات - إلى التربة يقتل النيماتودا التى توجد بها (1980 Dropkin).

ويمكن إجمال طبيعة مقاومة النباتات للنيماتودا فيما يلى:

1 - عدم إفراز الجذور لمركبات تجذب إليها النيماتودا.

2 - عدم قدرة اليرقات على اختراق الجذور.

3 - عدم مناسبة أنسجة الجذور لنمو النيماتودا بها بعد اختراقها لها.

4 - عدم استجابة العائل للنيماتودا، أى عدم تكوينه لخلايا عملاقة.

5 - فرط حساسية العائل للنيماتودا.

6 - تكوين جذور العائل لطبقة من بيريدرم الجروح تحيط بالنيماتودا بعد اختراقها لها (عن Fassulitotis وآخرين 1970).

ويذكر Taylor & Sasser (1978) أنه لم يوجد أى فرق جوهرى بين عدد يرقات نيماتودا تعقد الجذور التى اخترقت جذور أصناف الطماطم المقاومة والأصناف القابلة للإصابة، ولكن حالة المقاومة تكون مصاحبة بما يلى:

1 - يظهر تحلل Necrosis بموضع الاختراق.

2 - لا تتكون خلايا عملاقة.

وكنتيجة لذلك .. فإن اليرقات التى تخترق جذور النباتات المقاومة يكون مآلها إلى أى مما يلى:

1 - تتطور إلى أنثى غير قادرة على إنتاج البيض، أو تنتج بيضًا مشوهًا.

2 - تتطور إلى ذكر.

3 - يتوقف التطور فى مرحلة الانسلاخ الثانى أو الثالث أو الرابع.

4 - تموت.

5 - تترك الجذور وهى مازالت فى الطور اليرقى الثانى، لتخترق جذرًا آخر.

ويكون التطور الجزئى للنيماتودا مصاحبًا بظهور بعض التآليل على الجذور، ويصاحب كل ذلك انخفاض فى أعداد النيماتودا فى الحقول المزروعة بالأصناف المقاومة.

وتمر النيماتودا المتحوصلة بأحداث مماثلة إلى حد كبير فى جذور أصناف البطاطس المقاومة لها .. فنجد أن بعض النيماتودا يفقس بالقرب من الجذور، وتخترق اليرقات أنسجة الجذور المقاومة مثلما تخترق جذور النباتات القابلة للإصابة، ولكن لا تتكون إناث ناضجة (أى Cysts) فى الأصناف المقاومة، إما لموت اليرقات بها، وإما لأنها تتطور إلى ذكور. وبذا .. تنخفض أعداد النيماتودا فى التربة (عن Russell 1978).

ولمزيد من التفاصيل عن الدراسات المبكرة حول طبيعة المقاومة للنيماتودا فى النباتات .. يراجع Rhode (1972)، و Dropkin (1980).

الفصل الثامن

التقييم لمقاومة الأمراض

تمهيد

يعد الملقح inoculum اللازم لاختبارات التقييم - عادة - بزراعة المسبب المرضى من البكتيريا أو الفطريات غير الإجبارية التطفل على بيئات صناعية مناسبة. وتكفى مزرعة أنبوبة اختبار من المسبب المرضى لاختبارات التقييم الصغيرة التى تشتمل على عدد محدود من النباتات.

وتتطلب الاختبارات المحدودة فى البيوت المحمية عدة أطباق بترى. أو عدة دوارق مخروطية من مزارع المسبب المرضى. ولتحضير الملقح .. إما أن يتم كشط النمو البكتيرى أو الفطرى ونقله إلى كمية مناسبة من الماء المعقم، وإما أن تُضرب المزرعة البكتيرية أو الفطرية كلها فى خلاط مع قليل من الماء، ثم تصفى خلال قطعة من الشاش للتخلص من الكتل الكبيرة، ثم يضاف مزيد من الماء للوصول بالملقح إلى التركيز المطلوب. وقد يحتاج الأمر إلى فصل البكتريا عن البيئة بالطرد المركزى، ثم عمل معلق مائى منها بالتركيز المطلوب.

أما الكميات الكبيرة من المسببات المرضية التى تلزم للاختبارات الحلقية الموسعة فإنها تُحضر إما فى بيئة سائلة فى دوارق مخروطية كبيرة مع توفير التهوية اللازمة لها (خاصة بالنسبة للبكتريا)، وإما فى بيئة صلبة فى أوانٍ كبيرة أيضا على أن يكون سطحها المعرض كبيراً، وإما على حبوب معقمة فى أحواض زراعية معقمة (بالنسبة للمزارع الفطرية).

أما الفطريات الإجبارية التطفل اللازمة لإجراء اختبارات التقييم فإنها تُجمع من العوائل المصابة بها وتخزن لحين استعمالها؛ فمثلا .. يمكن تخزين الجراثيم اليوريدية للأصداء لمدة سنة على صفر - 3°م، كما يمكن تخزين الأجسام الزقية لفطرات البياض الدقيقى (ceistothecia) فى درجة حرارة الغرفة.

اختيار الجيرمبلازم المناسب للتقييم لمقاومة الأمراض

يتعين - عند البحث عن مصادر لمقاومة الأمراض - أن يتم ذلك حسب تسلسل معين حتى لا يضيع كثير من الوقت أو الجهد دونما داع، وتكون هذه الخطوات كما يلى:

1 - عمل حصر شامل للبحوث السابقة للتعرف على مصادر المقاومة المتوفرة بالفعل التى سبق اكتشافها، لأنها أولى بالاختبار من غيرها. وكثيرا ما تُنشر قوائم بمصادر مقاومة الأمراض فى عديد من المحاصيل، مثل:

المرجع	الموضوع
Walker (1941، 1953، 1965)	محاصيل الخضر: مصادر المقاومة وجهود التربية
Stevenson & Jones (1953)	مصادر مقاومة الأمراض فى عديد من المحاصيل الحلقية والبستانية
Alexander & Hoover (1955)	الطماطم
Alexander وآخرون (1959)	الطماطم
Shay وآخرون (1962)	التفاح والكمثرى
Darrow (1966)	الفراولة
Leppik (1970)	مراكز نشوء النباتات وأهميتها فى الحصول على مصادر مقاومة الأمراض
Sasser & Kirby (1979)	قائمة بأكثر من 235 صنفًا من مختلف النباتات مقاومة لنوع واحد أو أكثر من نوع من نيماتودا تعقد الجذور

(1986) Univ. Calif.	مصادر المقاومة لعدد من الأمراض والعيوب الفسيولوجية فى بعض أصناف البطاطس الأمريكية الهامة
Jones وآخرون (1986)	مصادر المقاومة لعدد من الأمراض والحشرات والعيوب الفسيولوجية فى بعض أصناف البطاطا الأمريكية الهامة
(1983) Coyne & Shuster	حصر شامل لمصادر (ووراثة وطبيعة) المقاومة للأمراض البكتيرية فى محاصيل الخضر
Dayton وآخرون (1983)	الفاكهة
(1991) Lenné & Wood	الجيرملازم البرى كمصدر لمقاومة الأمراض
(1992) Roberts	مصادر المقاومة للنيماتودا

وكمثال .. يبين جدول (8-1) قائمة بأسماء الأصناف والسلالات النباتية المزروعة المقاومة للنيماتودا Ditylenchus dipsaci.

وإذا اتضح من الدراسات السابقة أنه لا تعرف أية مصادر لمقاومة المرض، أو إذا اتضح عند اختبارات تلك المصادر عدم مقاومتها للسلالات المحلية من المسبب المرضى .. يتعين - حنيئذ - اللجوء إلى الخطوة التالية.

2 - جمع واختبار أكبر عدد ممكن من الأصناف التجارية الشائعة فى منطقة الإنتاج، والأصناف المحسنة المزروعة فى أماكن أخرى من العالم؛فإذا كان أى منها مقاومًا .. فإنه قد يستخدم مباشرة فى الزراعة المحلية إذا كان ناجحًا فى الزراعة، أو يستخدم كمصدر للمقاومة فى برامج التربية إن لم يكن له صفات حقلية أو بستانية مقبولة.

3 - جمع وتقييم أكبر عدد من سلالات التربية كما فى الخطوة السابقة، لأنها تكون محسنة إلى حد كبير، ولا يخشى من إدخالها لصفات رديئة غير مرغوب فيها فى برامج التربية، علمًا بأنه تكتشف أحيانًا مصادر جديدة لمقاومة الأمراض بين تلك السلالات، مثل المقاومة للسلالة 3 من الفطر المسبب للذبول الفيوزارى التى وجدت فى سلالة الطماطم US 638، والمقاومة للسلالة 2 من الفطر المسبب لذبول فيرتسيليم التى وجدت كذلك فى سلالة الطماطم US 2668170G، وكلاهما من برامج تربية منتهية (عن Kerr 1983).

4 - جمع وتقييم أكبر عدد ممكن من الأصناف البلدية والأصناف والسلالات غير المحسنة من المحصول، فما كان منها مقاومًا يمكن الاستفادة منه كمصدر للمقاومة فى برامج التربية، لأنها تكون من نفس النوع المحصولـى، ولا يخشى - عند استعمالها - من المشاكل التى تنشأ عند اللجوء إلى الأنواع البرية.

5 - اللجوء بعد ذلك إلى الأنواع البرية القريبة للبحث عن مصادر للمقاومة، ويفضل البدء بالأنواع التى تتهجن بسهولة مع النوع المزروع، ثم تلك التى تتهجن بصعوبة معه، علما بأن تاريخ التربية لمقاومة الأمراض حافل بالأمثلة التى نقلت فيها صفات المقاومة إلى الأنواع المزروعة من الأنواع البرية القريبة لها. وكأمثلة .. يبين جدولا (8-2، و 8-3) بعض المصادر البرية لمقاومة أمراض وآفات البطاطس الهامة، ويبين جدول (8-4) المصادر البرية لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور فى بعض محاصيل الخضر، كما يبين جدول (8-5) نتائج اختبارات جيرميلازم بعض الأنواع النباتية لمقاومة الأنواع النيماتودية الخارجية التطفل.

جدول (8-1): الجيرميلازم الذى وجد مقاومًا للنيماتودا **Ditylenchus dipsaci** من مختلف الأنواع المحصولية (عن Plowright وآخرين 2002).

المحصول	الاسم العلمى	الصنف أو السلالة
البرسيم الحجازى	Medicago sativa	Vertus
		Nova
		Washoe Lahontan
		Resistador II
البرسيم الأبيض	Trifolium repens	Line G49
		Sabeda
		Katrina
		Alice
		Donna
		Aran
		Pronitro
الراى	Secale cereale	Ottersum (Land race) Heertvelder
الفول	Vicia faba	INRA 29H
		Souk el Arba
		Rharb (land race)
البرسيم الأحمر	Trifolium pratense	Sabtoron

		Norseman
الشوفان	**Avena sativa**	**Grey Winter**
		Peniarth
		Anita
		Bettong
	A. ludoviciana	**Cc 4346**

جدول (8-2): المصادر البرية لمقاومة الأمراض والآفات الهامة فى الجنس Solanum الذى تنتمى إليه البطاطس (عن Hawkes 1990).

المرض أو الآفة	**مصادر المقاومة**
أولاً: المقاومة للفطريات	
1 - الندوة المتأخرة Phytophthora infestans (late blight)	**S. demissum, S. bulbocastanum, S. polyadenium, S. pinnatisectum, S. stoloniferum, S. verrucosum, S. tuberosum subsp. andigena, S. phureja, S. microdontum, S. berthaultii, S. tarijense, S. circaeifolium, S. vernei.**
2 - التثألل Synchytrium endobioticum (wart)	**S. tuberosum (both subspecies), also to R2 and R3 races in a range of wild species from Bolivia including S. sparsipilum, S. acaule (and S. spegazzinii from Argentina)**

S. chacoense, S. commersonii, S. yungasense and various cultivated species	3 - الجرب العادى Streptomyces scabies (common seab)
	ثانيًا: المقاومة للبكتيريا:
Promising species are, in particular, S. chacoense and S. sparsipilum. Resistance is also found in S. phureja, S. stenotomum and S. microdontum.	1 - الذبول البكتيرى Pseudomonas solanacearum (bacterial wilt)
Resistance found in some accessions of S. bulbocastanum, S. chacoense, S. demissum, S. hjertingii, S. leptophyes, S. microdontum, S. negistacrolobum, S. phureja, S. pinnatisectum, S. tuberosum subsp. andigena, etc.	2 - العفن الطرى وعفن القاعدة Erwinia carotovora (Soft rot; blackleg)
	ثالثًا: المقاومة للفيروسات:
S. acaule, S. chacoense, S. curtilobum, S. phureja, S. sucrense, S. tarijense, S. sparsipilum, S. tuberosum subsp. andigena, and several other species.	1 - فيرس إكس البطاطس Potato virus X
S. chacoense, S. stoloniferum, S. phureja, S. demissum, S. tuberosum subsp. andigena.	2 - فيرس واى البطاطس Potato virus Y
S. brevidens, S. etuberosum, S. acaule, S. raphanifolium.	3 - فيرس التفاف أوراق البطاطس Potato leaf roll virus

تابع جدول (8-2):

المرض أو الآفة	مصادر المقاومة
4 - فيرس الدرنة المغزلية Spindle tuber viroid	S. acaule from Peru (good resistance), S. berthaulii, S. guerreroense.
رابعًا: المقاومة للحشرات	
1 - خنفساء كلورادو Leptinotarsa decemlineata (Colorado beetle)	S. chacoense, S. demissum, S. commersonii, S. berthaultii, S. tarijense, S. polyadenium
2 - المن: Myzus persicae, Macrosiphum euphorbiae (aphids)	S. berthaultii, S. stoloniferum, S. multidissectum, S. medians, S. marinasense, S. lignicaule, S. infundibuliforme, S. chomatophilum, S. bulbocastanum, S. bukasovii.
خامسًا: المقاومة للنيماتودا:	
1 - نيماتودا البطاطس المتحوصلة: Globodera rostochiensis, G. pallida (potato cyst nematode)	S. acaule, S. spegazzinii, S. vernei, S. gourlayi, S. capsicibaccatum, S. boliviense, S. bulbocastanum, S. cardiophyllum, S. oplocense, S. sparsipilum, S. sucrense and several other species from Bolivia and Argentina.

2 - نيماتودا تعقد الجذور: Meloidogyne incognita (root-knot nematode)	S. chacoense, S. microdontum, S. phureja, S. sparsipilum, S. tuberosum subsp. andigena and S. curtilobum.

جدول (8-3): أنواع الجنس Solanum التى توجد بها مقاومة لفيرس التفاف أوراق البطاطس (عن Hull 2002).

النوع	السلسلة	مستوى التضاعف	دولة المنشأ (أ)	برى أم منزرع؟	يكوِّن أو لا يكوِّن درنات؟
S. etuberosum	Etuberosa	2×	Chile	برى	لا يكون
S. brevidens	Etuberosa	2×	Argentina, Chile	برى	لا يكون
S. raphanifolium	Megistacroloba	2×	Peru	برى	يكون
S. chacoense	Yungasensa	2×	Argentina, Bolivia,		
S. acaule	Acaulia	4×	Paraguay, Uruguay	برى	يكون
S. demissum	Demissa	6×	Argentina, Bolivia,		
			Peru	برى	يكوِّن
			Mexico	برى	يكوِّن

تابع جدول (8-3):

		مستوى		برى أم	يكوِّن أو لا
النوع	السلسلة	التضاع ف	دولة المنشأ (أ)	منزرع؟	يكوّن درنات؟
S. phureja	Tuberosa	2×	Bolivia, Colombia,		
			Ecuador, Peru,		
			Venezuela	منزرع	يكوِّن
S. tuberosum	Tuberosa	4×	Argentina, Bolivia,		
ssp. andigena			Colombia, Ecuador,		
			Peru, Venezuela	منزرع	يكوِّن
S. tuberosum spp.	Tuberosa	4×	Chile	منزرع	يكوِّن
tuberpsu					

أ - Chile: شيلى، و Argentina: الأرجنتين، و Peru: بيرو، و Bolivia: بوليفيا، و Paraguay: باراجواى، و Uruguay: أوراجواى، و Mexico: المكسيك، و Colombia: كولومبيا، و Ecuador: إكوادور، و Venezuela: فنزويلا.

جدول (8-4): المصادر البرية للمقاومة لنيماتودا تعقد الجذور فى بعض محاصيل الخضر (عن Kalloo 1988).

المحصول	الأنواع البرية المقاومة	أنواع نيماتودا تعقد الجذور التى يقاومها النوع البرى
البطاطس	**Solanum acaule**	**M. incognita**
	S. stoloniferum	**M. incognita, M. hapla**
	S. raphanifolium	**M. incognita**
	S. leptophytes	**M. incognita**
	S. spegazzinii	**M. incognita**
	S. vernei	**M. incognita, M. hapla**
	S. bulbocastanum	**M. incognita, M. hapla**
	S. gandarillasii	**M. incognita**
	S. lignicaule	**M. incognita**
	S. ajanhuiri	**M. incognita**
	S. demissum	**M. incognita**
	S. tuberosum group anadigena	**Meloidogyne spp.**

تابع جدول (8-4):

المحصول	الأنواع البرية المقاومة	أنواع نيماتودا تعقد الجذور التى يقاومها النوع البرى
	S. bijugum	Meloidogyne spp.
	S. commersonii	Meloidogyne spp.
	S. chacoense	Meloidogyne spp.
	S. tascalense	Meloidogyne spp.
	S. cardiophyllum	M. hapla
	S. multidissectum	M. hapla
الطماطم	Lycopersicon peruvianum	M. incognita, M. javanica, M. arenaria
الباذنجان	S. sisymbrifolium	Meloidogyne spp.
الفول الرومى	Vicia calcarata	M. incognita, M. javanica
	V. serratifolia	M. incognita, M. javanica
	V. cornigera	M. javanica
الجزر	Daucus carota ssp. hispanicus	M. hapla
الخيار والكنتالوب	Cucumis zeyheri	Meloidogyne spp.
	C. anguria (PI233646)	M. incognita
	C. ficifolius	M. incognita
	C. longipers	M. incognita

	C. metuliferus	M. incognita
	C. heptadactylus	M. incognita

جدول (8-5): نتائج اختبارات جيرمبلازم بعض الأنواع النباتية لمقاومة الأنواع النيماتودية الخارجية التطفل (عن Starr & Bendezu 2002).

النبات المُقيم	النيماتودا	عدد سلالات الجيرمبلازم المختبرة	تواجد المقاومة	تواجد القدرة على التحمل
حشيشة برمودا	Belonolaimus longicaudatus	41	تتواجد	تتواجد
القنبيط	Tylenchorhynchus brassicae	10	تتواجد	--
القطن	Hoplolaimus columbus	84	--	تتواجد
العنب	Xiphinema index	12	تتواجد	--
الفول السودانى	T. brevilineatus	1599	تتواجد	--
الذرة	Mesocriconema spp.	4	لا تتواجد	--

تابع جدول (8-5):

النبات المُقيم	النيماتودا	عدد سلالات الجيرمبلازم المختبرة	تواجد المقاومة	تواجد القدرة على التحمل
	Helicotylenchus pseudodigonicus	8	تتواجد	--
Nicotiana spp.	T. vulgaris	17	تتواجد	تتواجد
Prunus spp.	Criconemella xenoplax	369	لا تتواجد	--
Prunus spp.	C. xenoplax	410	لا تتواجد	--
الأرز	Paralongidorus australis	14	--	لا تتواجد
St Augustine grass	B. longicaudatus	8	تتواجد	--
	Hoplolaimus galeatus	7	لا تتواجد	لا تتواجد
دوار الشمس	X. basiri	6	لا تتواجد	تتواجد
Vitis spp.	X. index	37	تتواجد	--

6 - البحث عن الطفرات المقاومة للمرض فى مزارع الأنسجة، وخاصة مزارع الكالس، علمًا بأن بعض الأمراض (وهى التى تظهر أعراضها بفعل سموم تفرزها مسبباتها) يسهل إجراء اختبارات المقاومة لها فى مزارع الأنسجة.

7 - محاولة استحداث طفرات فى الأصناف المزروعة على أمل أن تكون إحدى الطفرات الناتجة مقاومة للمرض. وبرغم أنه توجد أمثلة ناجحة لحالات كهذه، إلا أن الغالبية العظمى من الطفرات المستحدثة تكون عادة رديئة الصفات.

8 - اللجوء فى نهاية الأمر إلى الأنواع المحصولية أو البرية القريبة التى لا تنجح تهجيناتها مع المحصول المراد تربيته، مع محاولة نقل صفات المقاومة المتوفرة فيها بطرق أخرى غير جنسية مثل: دمج البروتوبلازم، أو الهندسة الوراثية.

ومن أهم المصادر التى يمكن الحصول منها على الجيرملازم اللازم للتقييم ما يلى:

1 - مربو النباتات: تنشر منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة قوائم بأسماء وعناوين مربى النباتات والبحوث التى يقومون بإجرائها، كما يمكن معرفة ذلك من بحوثهم المنشورة.

2 - شركات البذور: يمكن استخدام كتالوجات بذور الأصناف التى تنتجها تلك الشركات فى التعرف على مصادر مقاومة الأمراض فى الأصناف التجارية.

3 - محطات البحوث فى جميع أنحاء العالم.

4 - تعاونيات الوراثة والتربية لمختلف المحاصيل.

5 - معاهد البحوث الدولية المتخصصة، ومحطات إدخال النباتات الإقليمية بالولايات المتحدة الأمريكية. ويمكن الاطلاع على تفاصيل تلك المعاهد، ومحطات إدخال النباتات، وتعاونيات المحاصيل فى حسن (2005 أ).

الشروط اللازمة لعملية التقييم

يلزم عند عدوى النباتات لاختبار مدى مقاومتها للأمراض توفر شروط معينة فى عملية التقييم، من أهمها ما يلى:

1 - استعمال عزلات isolates محددة من المسبب المرضى، تكون ذات تركيب وراثى ثابت ومعروف.

2 - تجنب استعمال خليط من سلالات المسبب المرضى عند إجراء اختبارات المقاومة، لأن ذلك قد يترتب عليه عدم العثور على أى مصدر للمقاومة؛ فقد تكون بعض الأصناف أو السلالات المختبرة من العائل مقاومة لسلالة معينة من المسبب المرضى، بينما يكون بعضها الآخر مقاومًا لسلالات أخرى، ولكن اختبارها معا بمخلوط من السلالتين يترتب عليه ظهور أعراض الإصابة بالمرض على جميع الأصناف المختبرة وضياع فرصة اكتشاف المقاومة.

3 - ضرورة استعمال تركيز مناسب من الملقح المستعمل فى العدوى الصناعية. ويجب أن يتحدد هذا التركيز فى تجارب أولية، وألا يكون اعتباطيا، ذلك لأن التركيز إذا قل عن مستوى معين فإن بعض النباتات القابلة للإصابة قد تفلت من الإصابة، فتبدو مقاومة، بينما تؤدى زيادة التركيز على مستوى معين إلى تعرض بعض النباتات المقاومة للإصابة.

ويعتبر التركيز مثاليًّا عندما تحدث أعلى نسبة من الإصابة فى النباتات القابلة للإصابة مع أقل نسبة من الإصابة فى النباتات المقاومة. ومن الطبيعى أن يتوقف هذا التركيز على درجة ضراوة سلالة المسبب المرضى، وحيوية أجزائه القادرة على إحداث الإصابة، وعلى الظروف البيئية المحيطة بالنباتات قبل وبعد حقنها بالمسبب المرضى.

وقد تكون بعض جينات المقاومة قوية جدًّا إلى درجة يصعب معها إحداث الإصابة فى النباتات المقاومة، بينما يُحدث نفس التركيز المستخدم فى العدوى إصابة بنسبة حوالى 100% فى النباتات القابلة للإصابة. ففى الذبول الفيوزارى فى الطماطم .. وجد Alon وآخرون (1971) أن زيادة تركيز اللقاح المستخدم فى العدوى الصناعية أحدث زيادة فى نسبة الإصابة بين النباتات غير الحاملة للجين I المسئول عن المقاومة للفطر. وقد كان التركيز الذى أحدث 96% إصابة فى النباتات القابلة للإصابة الأصلية (ii) كافيًّا لإحداث 4% إصابة فى النباتات الخليطة (Ii)، بينما لم يُحدث هذا التركيز أية إصابة فى النباتات المقاومة الأصلية (II).

4 - يجب أن تكون الطريقة المستعملة سهلة وبسيطة، بحيث يمكن استخدامها فى تقييم أكبر عدد من النباتات بسرعة، وفى حيز صغير نسبيًّا، ودون بذل جهد كبير، لأن الأمر يتطلب أحيانًا مئات النباتات.

5 - يجب أن تدل الطريقة المستعملة على حقيقة حالة المقاومة، وأن يمكن تكرارها والاعتماد عليها. فمثلاً .. يكون إحداث الجروح ضروريًّا فى بعض الأحيان، إلا أنه يفضل الاعتماد على منافذ الإصابة Infection Courts الطبيعية قدر الإمكان، ليمكن الاعتماد على نتائج التقييم تحت الظروف الطبيعية.

6 - أن يكون توزيع اللقاح Inoculum متجانسا بين النباتات المختبرة إلى أكبر درجة ممكنة.

7 - أن تكون الظروف البيئية عند الحقن وأثناء فترة الحضانة مناسبة لحدوث الإصابة.

8 - أن تكون النباتات المختبرة خالية من الإصابات الأخرى المرضية منها والحشرية، وفى حالة فسيولوجية مناسبة لإجراء العدوى.

9 - يتطلب إجراء اختبارات التقييم توفر شروط معينة أخرى - تتوقف تفاصيلها على المرض المعنى - ليمكن التمييز بين النباتات المقاومة والنباتات القابلة للإصابة. فمثلا .. يلزم توفر الشروط التالية عند إجراء اختبار المقاومة للفطر Aphanomyces euteches المسبب لمرض عفن الجذور فى البسلة (عن Walker 1966):

أ - الزراعة على عمق 2 سم.

ب - عدوى البادرات عندما يبلغ طولها 2–5 سم، أو عندما يصل عمرها إلى 4–6 أيام.

جـ - استعمال مزرعة من الفطر المسبب للمرض بعمر 4–5 أيام.

د - أن يكون معلق جراثيم الفطر المستخدم فى العدوى بتركيز حوالى 150 جرثومة سابحة zoospore لكل ملليلتر واحد.

هـ - أن تكون الجراثيم السابحة بعمر 2–14 ساعة.

و - أن تكون العدوى بمعدل 10 مل من معلق جراثيم الفطر لكل 2.5 سم من خط الزراعة.

ز - أن يضاف معلق الجراثيم بالقرب من خط الزراعة قدر الإمكان.

ح - إضافة الماء إلى الرمل المستخدم فى الزراعة - قبل العدوى - بمعدل 1.8-2.7 لترًا لكل 16.2 كجم من الرمل.

ط - تشبيع الرمل بالماء مرة أخرى بعد العدوى بالفطر.

ى - حفظ درجة حرارة الرمل عند 24°م.

الخصائص النباتية والعوامل البيئية المؤثرة فى كفاءة عملية التقييم ونتائجها

تتأثر كفاءة التقييم لمقاومة الأمراض بعدد من العوامل التى يجب مراعاتها والاستفادة منها - إن وجدت - ليمكن تقييم أكبر عدد من النباتات فى أقصر وقت ممكن، وبأسهل طريقة ممكنة، ولتكون نتائج التقييم صحيحة، ويمكن تكرارها والاعتماد عليها فى انتخاب النباتات المقاومة خلال مراحل برامج التربية.

ولن نتطرق حاليا إلى الجوانب التقنية المؤثرة فى كفاءة عملية التقييم، فذلك موضوع العناوين التالية من هذا الفصل، وإنما سيكون اهتمامنا بالخصائص النباتية المورفولوجية والوراثية، والعوامل البيئية المؤثرة فى هذا المجال.

تأثير عمر النبات فى مقاومته للأمراض

تتأثر المقاومة فى كثير من الأمراض بعمر النبات، وهو أمر يجب وضعه فى الحسبان عند إجراء اختبارات التقييم، ومن أمثلة ذلك ما يلى (عن Yarwood 1959):

1 - تكون النباتات عمومًا أكثر قابلية للإصابة بالذبول الطرى فى طور البادرات، وبالأصداء فى عمر متوسط، وبالفطر رايزوبس Rhizopus فى طور الشيخوخة.

2 - تزداد مقاومة بعض الأمراض بتقدم النبات فى العمر، كما فى مقاوم البكتيريا Erwinia فى الخس، ومقاومة الفطر Phytopthora فى البطاطس.

3 - تزداد القابلية للإصابة ببعض الأمراض بتقدم النبات فى العمر، كما فى حالتى البياض الزغبى (Pseudoperonospora) فى الخيار أو البياض الدقيقى (Erysiphe) فى الخس.

4 - تزداد القابلية للإصابة بالمرض فى الأطور المبكرة والمتأخرة من النمو، بينما تزداد المقاومة فى الأعمار المتوسطة كما فى حالة المقاومة لفطر الفيوزاريم فى البطاطس.

5 - تزداد مقاومة المرض فى الأطور المبكرة والمتأخرة، بينما تزداد القابلية للإصابة فى الأعمار المتوسطة فى بعض الأمراض، كما فى حالة مقاومة البطاطس للبكتيريا Erwinia، ومقاومة الفاصوليا لكل من فطر الصدأ (Uromyces)، وفيرس موزايك التبغ.

وعمومًا .. يمكن - بشئ من التحفظ - القول بأن المقاومة للرميات الاختيارية Facultative Saprophytes تزيد بزيادة عمر أنسجة العائل، بينما تنخفض المقاومة للطفليات الإجبارية Obligate Parasites بتقدم النبات فى العمر.

الارتباط بين مقاومة البادرات ومقاومة النباتات البالغة

يُفضل دائما إجراء اختبارات المقاومة للأمراض فى طور البادرة، حيث يمكن تقييم أعداد كبيرة من النباتات بسهولة، خلال فترة قصيرة، وفى مساحة صغيرة. ولا ضير فى ذلك إذا كان المرض من تلك التى تظهر على البادرات مثل الذبول الطرى، أما فى حالة الأمراض الخاصة بالنباتات البالغة فإنه يلزم توفر ارتباط قوى بين مقاومة البادرات ومقاومة النباتات البالغة؛ ليمكن إجراء التقييم فى طور البادرة. ومن أمثلة ذلك حالة المقاومة للفطر Phytophthora parasitica المسبب لمرض عفن الجذر والتاج الفيتوفثورى فى الطماطم، حيث قيّم Blaker & Hewitt (1987) النباتات بعدوى البادرات وهى فى مرحلة نمو الورقة الحقيقية الأولى، وكان التقييم للمقاومة على أساس موت أو بقاء البادرات، ووجدا أن هذا الاختبار يفيد فى التنبؤ بمقاومة النباتات البالغة.

كذلك أوضحت دراسات Dickson & Hunter (1987) أن سلالة الكرنب PI436606 تقاوم البكتيريا Xanthomonas campestris pv. campestris - المسببة لمرض العفن الأسود - فى كل من طورى البادرة والنبات البالغ، وقد اكتشفا مقاومة هذه السلالة لدى اختبارهما لمعظم أصناف وسلالات الكرنب العالمية التى تحتفظ بها وزارة الزراعة الأمريكية.

وقد توصل Thomas وآخرون (1987) إلى أن شدة الإصابة بالبياض الزغبى فى القاوون على الورقتين الحقيقيتين الأولى والثانية (معبراً عنها برقم زوجى تمثل فيه خانة الآحاد شدة الإصابة على الورقة الأولى، وتمثل خانة العشرات شدة الإصابة على الورقة الثانية) تحت ظروف الصوبة يمكن أن تستخدم فى التنبؤ بشدة الإصابة فى النباتات البالغة تحت ظروف الحقل.

ويذكر Lower & Edwards (1986) أنه تجرى اختبارات - فى طور البادرة - لثمانية من المسببات المرضية فى الخيار، وهى:

نوع المسبب المرضى	المرض	المسبب المرضى
فطر	الأنثراكنوز	**Colletotrichum lagenarium**
فطر	البياض الزغبى	**Pseudoperonospora cubensis**
فطر	الذبول الفيوزارى	**Fusarium oxysporum**
فطر	الجرب	**Cladosporium cucumerinum**
فطر	البياض الدقيقى	**Sphaerotheca fuliginea**
بكتيريا	الذبول البكتيرى	**Erwinia tracheiphila**
بكتيريا	تبقع الأوراق الزاوى	**Pseudomonas lachrymans**
فيرس	موزايك الخيار	**Cucumber Mosaic Virus**

يجرى الاختبار ضد الذبول الفيوزارى بزراعة البذور فى أحواض مملوءة بالرمل الملوث بالفطر المسبب للمرض، ويجرى التقييم ضد مرضى البياض الدقيقى والتبرقش فى مرحلة نمو الورقة الحقيقية الأولى أو الثانية، أما بقية المسببات المرضية .. فتجرى اختبارات التقييم لها فى مرحلة نمو الأوراق الفلقية.

هذا .. وقد لفت Rahe (1981) الانتباه إلى الحالات المرضية التى لا ترتبط فيها نتائج اختبارات المقاومة فى الحقل بنتائج الاختبارات المعملية.

وقد يُحدث المسبب المرضى الواحد مرضين مختلفين للمحصول الواحد، ولا يشترط - فى هذه الحالة - أن تكون المقاومة الوراثية واحدة لكلا المرضين. ومن أمثلة ذلك الفطر **Rhizoctona solani** الذى يصيب نباتات الخيار بمرضين هما: الذبول الطرى، وعفن الثمار الرايزكتونى (أو عفن وسط الثمرة Belly Rot)، حيث وجد Booy وآخرون (1987) تباينًا كبيرا بين 35 سلالة من الخيار فى شدة إصابتها بالذبول الطرى التى تراوحت من 1.5 إلى 5.9 على مقياس من صفر (لا توجد أية إصابة) إلى 9 (موت النباتات)، بينما لم يجدوا أى ارتباط بين المقاومة لهذا المرض والمقاومة لعفن الثمار الرايزكتونى.

تقييم المقاومة على أساس أنها مرتبطة بصفات نباتية أخرى ظاهرة

من أبرز الأمثلة على الارتباط بين صفة المقاومة وصفة نباتية ظاهرة مقاومة البصل لمرض التهبب أو الاسوداد؛ حيث ترتبط المقاومة العالية بلون الأبصال الأحمر، والمتوسطة بلون الأبصال الوردى، بينما ترتبط القابلية للإصابة بلون الأبصال الكريمى والأبيض (عن Jones & Mann 1963)، وهو ما شرح بالتفصيل تحت موضوع وراثة المقاومة للأمراض.

كذلك تبين وجود ارتباط بين جين الطماطم Pto المسئول عن المقاومة للبكتيريا Pseudomonas syringae pv. tomato والحساسية للمبيد الحشرى العضوى الفوسفورى ليبايسيد Lebaycid (الذى يحتوى على المادة الفعالة fenthion). ففى عام 1984 لاحظ H. Laterrot (Laterrot 1985) وجود بقع كثيرة جدًّا ومتحللة على أوراق وأزهار جميع نباتات الطماطم الحاملة للجين Pto بعد أيام قليلة من رشها بالمبيد Lebaycid بهدف مكافحة صانعات الأنفاق .Liriomyza sp، واقتراح متابعة الجين Pto فى عشائر التربية عن طريق اختبار حساسيتها للفنثيون fenthion. ولم يكن يعرف - حينئذٍ - ما إذا كانت الصفتان يتحكم فيهما جينين مرتبطين بشدة، أم أنهما كانا راجعين إلى تأثير متعدد للجين Pto، ولكن تبين بعد ذلك صحة الافتراض الأول، وأمكن فصل الجينين: Pto، و Fen عن بعضهما البعض (عن Pedley & Martin 2003).

إمكانية تقييم المقاومة لأكثر من سلالة من المسبب المرضى على النبات الواحد

يمكن اختبار مقاومة النبات الواحد لعدد من سلالات المسبب المرضى (فى حالة تلك التى تصيب الأوراق) بإحدى طريقتين، كما يلى:

1 - بعدوى الأوراق المتتالية فى الظهور لسلالات مختلفة من المسبب المرضى، وهى طريقة أفادت مع صدأ الكتان، ولكنها أعطت نتائج متباينة مع فطريات أخرى.

2 - بعدوى الورقة الواحدة - فى مواضع مختلفة من المسبب المرضى، وهى طريقة تفيد مع المسببات المرضية التى تحدث بقعًا صغيرة لا تكون محاطة بهالات صفراء كبيرة (عن Dhingra & Sinclair 1983).

إمكانية تقييم المقاومة لأكثر من مرض على النبات الواحد

يمكن فى حالة التربية لمقاومة عديد من الأمراض عدوى النبات الواحد بأكثر من مسبب مرضى، فمثلاً .. تمكن Frazier من عدوى نباتات الطماطم - فى تتابع - بكل من مسببات أمراض الذبول الفيوزارى (فطر)، والذبول المتبقع (فيرس)، وتبقع أوراق استمفيللم (فطر)، وتعقد الجذور (نيماتودا) (عن Andrus 1953). إلا أنه يجب توخى الحرص عند إجراء اختبارات كهذه؛ إذ قد يوجد تنافس بين مختلف مسببات الأمراض، وقد تؤدى الإصابة بأحد الأمراض إلى جعل النبات أكثر مقاومة، أو أكثر قابلية للإصابة بأمراض أخرى.

ويعد التفاعل بين الفطر المسبب للذبول الفيوزارى ونيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم من الأمثلة الكلاسيكية لتأثير التفاعل بين المسببات المرضية على المقاومة.

إن تعرض نباتات الطماطم للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور (فى غياب الجين Mi) يهيئها ويجعلها عرضة للإصابة بالذبول الفيوزارى حتى فى وجود الجين I الذى يُكسب النباتات مقاومة لهذا المرض، وعليه .. فلو فُرِض وكان الانعزال فى كلا الجينين معًا (الانعزال للتركيب الوراثى Mimi Ii)، فإن الانعزال المتوقع فى وجود كلا المسببين المرضيين (نيماتودا تعقد الجذور Meloidogyne incognita، و الفطر المسبب للذبول الفيوزارى Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici) وهو: 9 : 3 : 3 : 1 (مقاوم لكليهما: مقاوم للنيماتودا وقابل للإصابة للنيماتودا ومقاوم للذبول: قابل للإصابة بكليهما) يُحَّور إلى 9 : 3 : 4 (مقاوم لكليهما: مقاوم للنيماتودا وقابل للإصابة بالذبول: قابل للإصابة بكليهما)؛ ذلك لأن الفئة التى كان يفترض مقاومتها للذبول فقط تصبح - فى غياب جين المقاومة للنيماتودا - مع حدوث الإصابة بها - قابلة للإصابة بالذبول (عن Webster 1985).

تأثير العوامل البيئية فى مقاومة النباتات للأمراض

تتأثر مقاومة النباتات للأمراض بعديد من العوامل البيئية سواء أكانت جوية (مثل: الحرارة، والرطوبة، والضوء) أم أرضية (مثل: درجة حرارة التربة، والرطوبة الأرضية، وقوام التربة، والعناصر الغذائية). كما يدخل موعد الزراعة ضمن العوامل البيئية المؤثرة فى المقاومة، لما لموعد الزراعة من علاقة مباشرة بمختلف العوامل البيئية. ويلزم التمييز بين تأثير العوامل البيئية السابقة للعدوى والإصابة المرضية، وتأثير العوامل أثناء حدوث الإصابة المرضية.

أولاً: تأثير العوامل البيئية السابقة للعدوى فى المقاومة

تؤثر الظروف البيئية السابقة للعدوى على قابلية النباتات للإصابة بالأمراض، وهو ما يعرف باسم Predisposition، كما يلى:

1 - درجة الحرارة:

تتأثر قابلية النباتات للإصابة بالأمراض كثيرا بدرجة الحرارة التى تتعرض لها النباتات قبل العدوى، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

أ - يؤدى غمس جذور الطماطم فى الماء الساخن قبل العدوى بفطر الفيوزاريم إلى تقليل الإصابة بالذبول.

ب - يؤدى تعريض أوراق الفاصوليا لدرجة حرارة 55°م لمدة 10 ثوان إلى خفض إصابتها بفيرس موزايك التبغ.

جـ - يؤدى تعريض نباتات الفول الرومى والخس للصقيع إلى زيادة أضرار الإصابة بفطر Botrytis.

د - وجد أن تعريض النباتات لدرجة حرارة 36°م - لمدة تتراوح من يوم إلى يومين - يزيد من قابليتها للإصابة بالفيروسات التى تنتقل ميكانيكيا (Yarwood 1959).

2 - شدة الضوء والفترة الضوئية:

يؤدى تظليل النباتات، أو تعريضها للظلام إلى زيادة قابليتها للإصابة بالفيروسات التى تنقل إليها بالطرق الميكانيكية. وبرغم أن التظليل يقلل من سمك طبقة الأديم بخلايا البشرة؛ مما يجعلها أكثر قابلية للتجريح والإصابة بالطرق الميكانيكية، إلا أن الأمر ليس بهذه البساطة؛ إذ إن التعريض للظلام لمدة يوم واحد يكون فعالا أيضًا فى زيادة القابلية للإصابة، بينما لا تكفى تلك الفترة لإحداث تغيرات أساسية فى أنسجة الورقة.

كذلك وجد أن خفض شدة الإضاءة قبل العدوى يزيد من قابلية الطماطم للإصابة بالذبول الفيوزارى، وقابلية الخس والطماطم للإصابة بالفطر Botrytis.

كما وجد أن تعريض نباتات الطماطم لنهار قصير قبل العدوى يزيد من قابليتها للإصابة بالذبول الفيوزارى.

3 - العناصر السمادية:

تؤثر جميع العناصر الغذائية - سواء أكانت عناصر كبرى، أم صغرى - فى قابلية النباتات للإصابة بالأمراض، وأهمها عناصر النيتروجين، والفوسفور، والبوتاسيوم، التى يمكن إيجاز تأثيرها - السابق للعدوى - فيما يلى:

أ - تؤدى زيادة النيتروجين إلى زيادة القابلية للإصابة بالأمراض بصورة عامة، إلا أنها تقلل القابلية للإصابة بأمراض معينة؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم.

ب - تؤدى زيادة الفوسفور إلى زيادة القابلية للإصابة فى بعض الحالات، مثل: فيرس موزايك الخيار فى الخيار، وفيرس موزايك التبغ فى الفاصوليا، كما أنها تؤدى إلى ضعف القابلية للإصابة فى حالات أخرى؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم.

جـ - تؤدى زيادة البوتاسيوم إلى خفض القابلية للإصابة بالأمراض بصورة عامة، إلا أنها تزيد القابلية للإصابة فى أمراض معينة؛ كما فى الذبول الفيوزارى فى الطماطم.

ثانيًا: تأثير العوامل البيئية السائدة أثناء وبعد العدوى فى المقاومة

من أهم العوامل البيئية المؤثرة فى المقاومة للأمراض فى النباتات ما يلى:

1 - درجة الحرارة:

لدرجة الحرارة تأثير فى مقاومة الأمراض فى النباتات، ومن أبرز الأمثلة على ذلك ما يلى:

أ - المقاومة للاصفرار (الذبول الفيوزارى) فى الكرنب:

يتوفر نوعان من المقاومة للفطر Fusarium oxysporum f. conglutinans المسبب لمرض الاصفرار فى الكرنب؛ إحداهما كمية (طراز B) وتمثلها المقاومة التى توجد فى الصنف Wisconsin Hollander، والأخرى بسيطة (طراز A)، وهى توجد - مصاحبة للمقاومة الكمية - فى الصنف Wisconsin All Seaeons.

ويمكن التمييز بسهولة بين نوعى المقاومة بالتحكم فى درجة حرارة التربة أثناء اختبار المقاومة فى مرحلة نمو البادرة. ففى حرارة ثابتة مقدارها 24°م .. تصاب جميع النباتات القابلة للإصابة، وكذلك جميع النباتات التى تحمل المقاومة الكمية، بينما لا تصاب النباتات التى تحمل المقاومة البسيطة، سواء أكانت أصيلة، أم خليطة. وإذا ارتفعت درجة الحرارة إلى أكثر من 28°م .. فإن جميع التراكيب الوراثية تصاب بالمرض، بما فى ذلك النباتات الحاملة للمقاومة البسيطة، ولا تكون المقاومة الكمية فعالة إذا ارتفعت درجة حرارة التربة عن 22°م، بينما إذا انخفضت درجة الحرارة عن 22°م .. فإنه لا تصاب سوى النباتات القابلة - وراثيا - للإصابة؛ أى التى لا تحمل أيا من طرازى المقاومة. وإذا استمر انخفاض الحرارة إلى 18°م .. تتوقف إصابة النباتات القابلة للإصابة كذلك.

ويمكن التمييز بين النباتات القابلة للإصابة والنباتات ذات المقاومة الكمية بإجراء اختبار المقاومة فى حرارة مقدارها ْ24م (عن Walker 1957).

وقد احتفظت أصناف الكرنب المقاومة (التى أنتجها J. C. Walker ومعاونوه) بمقاومتها لأكثر من 70 عامًا، واستخدمت تلك الأصناف كمصدر لمقاومة المرض فى عديد من برامج التربية. ولكن اكتشفت فيما بعد سلالة جديدة من الفطر فى كاليفورنيا (السلالة رقم 2) كانت قادرة على إصابة النباتات الحاملة لطراز المقاومة البسيطة (طراز A) حتى عند انخفاض درجة حرارة التربة إلى ْ14م، بينما لم تكن السلالة الأولى قادرة على إحداث الإصابة فى تلك الظروف (Bosland & Williams 1987).

وقد درس Bosland وآخرون (1988) تأثير درجة حرارة التربة - عندما تراوحت من 10 - ْ24م - على أعراض المرض، مع استخدام خمس سلالات فسيولوجية من الفطر المسبب للاصفرار. أجريت الدراسة فى أحواض زراعة خاصة temperature soil tanks، كما اختبرت عدة أصناف من الكرنب تحت الظروف الطبيعية فى كاليفورنيا فى حقول مصابة بالسلالة رقم 2 من الفطر.

وقد أوضحت هذه الدراسة أن جميع السلالات المستعملة زادت قدرتها على إحداث الإصابة جوهريا - فى عوائلها القابلة للإصابة - بارتفاع درجة حرارة التربة. وعند ْ10م .. أحدثت السلالة رقم 2 من الفطر F. oxysporum f. conglutinans إصابة طفيفة فى صنف الكرنب Golden Acre، وأحدث الفطر F. oxysporum f. raphani إصابة طفيفة كذلك فى صنف الفجل White Icicle. وكانت المقاومة البسيطة (طراز A) فى الكرنب عالية الكفاءة ضد السلالة رقم 1 من الفطر المسبب للاصفرار، إلا أن كفاءة تلك المقاومة ضعفت ضد السلالة رقم 2، مع ارتفاع حرارة التربة من ْ14م إلى ْ20م، وفقدت المقاومة فاعليتها تماما فى حرارة ْ22م، و ْ24م. أما المقاومة الكمية (طراز B) .. فقد كانت عالية الكفاءة ضد السلالة رقم 1 من الفطر فى حرارة ْ20م، والأقل منها، بينما لم تكن فعالة ضد السلالة رقم 2 إلا فى حرارة 10، و ْ12م فقط.

ب - مقاومة نيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم:

تعد السلالة PI128657 من L. peruvianum هى مصدر المقاومة الأصلى لكل من M. incognita، و M. javanica، و M. arenaria. وقد نقل منها الجين Mi الذى يتحكم فى المقاومة لهذه الأنواع إلى جميع أصناف الطماطم التجارية المعروفة بمقاومتها للنيماتودا.

وقد أوضحت نتائج الدراسات التى قورنت فيها مقاومة هذه السلالة بمقاومة الصنف التجارى فى إف إن 8 VFN8 أن مستوى تكاثر السلالة رقم 1 من M. incognita لم يختلف بينهما، سواء أكان الاختبار على 25°م، أم 32°م؛ مما يدل على أن الخلفية الوراثية للطماطم لم تؤثر فى المقاومة. كان كل من السلالة والصنف مقاومًا للنيماتودا فى درجة حرارة 25°م، ولكنهما كانا قابلين للإصابة فى حرارة 32°م.

أما السلالة رقم PI126443 من النـوع L. glandulosum والسلالة رقم PI270435 من النوع L. peruvianum (وكلاهما مقاوم لكل من M. hapla، و M. incognita)، والسلالتان أرقام PI129152، و LA2157 من L. peruvianum (وكلاهما مقاوم للنوع M. incognita فقط) فقد كانت جميعها على درجة عالية من المقاومـة للسلالة رقم 1 من M. incognita فى كل من درجتى الحرارة 25°م و 32°م. كما وجد أن سلالتين خضريتين (هما: 1-MH و 5-MH) من السلالة PI126440 للنوع L. glandulosum (وكلاهما مقاوم للنوع M. hapla) كانتا متوسطتين فى قابليتهما للإصابة بالنوع M. javanica فى 25°م وشديدتى القابلية للإصابة فى حرارة 32°م. وتدل هذه النتائج على وجود جين أو جينات أخرى غير الجين Mi تعطى مقاومة فى درجات الحرارة المرتفعة (Ammati وآخرون 1986).

جـ - المقاومة لفيرس موزايك الفاصوليا الأصفر فى البسلة:

يتحكم فى مقاومة فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر Yellow Bean Mosaic Virus فى البسلة عامل وراثى واحد يتأثر كثيراً بدرجة الحرارة. فعند اختبار نباتات الجيل الثانى فى حرارة 18°م أو أقل .. تظهر أعـراض المرض على النباتات الأصيلة القابلة للإصابة فقط؛ وبذا .. تكون المقاومة سائدة. ولكن إذا اختبرت نباتات الجيل الثانى فى حـرارة 27°م .. فإن أعراض المرض تظهر على جميـع النباتات ما عدا النباتات الأصيلة فى صفة المقاومة فقط، وبذا .. تكون المقاومة متنحية. أى أنه يمكن عن طريق التحكم فى درجة الحرارة التمييز بين النباتات الأصيلة والنباتات الخليطة فى صفة المقاومة (1966 Walker).

د - المقاومة لفيرس موزايك الخيار فى السبانخ:

إن نباتات السبانخ المقاومة لفيرس موزايك الخيار فى حرارة 16-20°م تظهر عليها أعراض جهازيه للمرض فى حرارة 28°م (عن Kiraly وآخرين 1974).

2 - الرطوبة الأرضية:

ترتبط المستويات المرتفعة من الرطوبة الأرضية - عادة - بزيادة شدة الإصابة بالأمراض، وربما يرجع ذلك إلى أن توفر أغشية من الرطوبة يساعد على تحرك الجراثيم المتحركة. وبالنسبة لصفة المقاومة فإن التربة الغدقة تضعف المجموع الجذرى بالاختناق، مما يضعف مقاومته للأمراض.

ولمزيد من التفاصيل عن الدراسات المبكرة حول تأثير العوامل البيئية على المقاومة للأمراض .. يراجع Yarwood (1959)، و Walker (1965)، و Colhoum (1973).

اختبارات التقييم الحلقية

يعتمد إجراء اختبارات التقييم الحلقية على انتشار المرض فى الحقل إما بصورة طبيعية، وإما بعد إحداث عدوى صناعية بالمسبب المرضى.

الاعتماد على الأوبئة الطبيعية

تجرى اختبارات التقييم تحت الظروف الطبيعية فى المناطق والمواسم التى يتواجد فيها المرض بحالة وبائية، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - تختبر سلالات بنجر السكر لمقاومة فيرس تجعد القمة فى الولايات المتحدة فى الحقول المجاورة للحبوب الصغيرة التى تتكاثر فيها نطاطات الأوراق الناقلة للفيرس. وفى الربيع .. تنتقل النطاطات الحاملة للفيرس من الحشائش المصابة إلى حقول التقييم؛ حيث تنقل إليها الفيرس، وتتكاثر عليها.

2 - تختبر سلالات البطاطس لمقاومة الندوة المتأخرة فى وادى تولكا Toluca بالمكسيك؛ حيث تتواجد عديد من سلالات الفطر المسبب للمرض فى المنطقة التى يسودها دائما جو مثالى لحدوث الإصابة (Russell 1978).

3 - أمكن خلال موسمين من الإصابة الوبائية باللفحة النارية بولاية ميرلاند الأمريكية تقييم 522 صنفًا من الكمثرى لمقاومة المرض، حيث أصيب 88% منها بشدة، بينما كانت 2% منها متوسطة القابلية للإصابة، و 4% متوسطة المقاومة، و 5% عالية المقاومة، و 2% خالية تمامًا من أية أعراض للإصابة (Oitto وآخرون 1970).

4 - أمكن تقييم أعداد كبيرة من أصناف وسلالات مزروعة وبرية بلغت 1796 من جنس الطماطم Lycopersicon spp. لمقاومة فيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم، و 968 من نوع القاوون Cucumis melo، و 457 من جنس البطيخ Citrullus ssp. لمقاومة فيرس اصفرار وتقزم القرعيات تحت ظروف طبيعية تنتشر فيها الذبابة البيضاء الحاملة لهذين الفيروسين بصورة وبائية (Hassan وآخرون 1990، و 1991 أ، و 1991 ب).

ويعيب على اختبارات التقييم للمقاومة تحت الظروف الطبيعية ما يلى:

1 - يكون التقييم - دائمًا - لمقاومة خليط من سلالات المسبب المرضى، وليس لسلالة معينة منه. إلا أن التقييم يكون ضد جميع السلالات الهامة على أية حال، كما يمكن إجراء الاختبار فى مناطق معينة تنتشر فيها سلالات معينة من المسبب المرضى.

2 - احتمال إفلات بعض النباتات من الإصابة.

3 - احتمال زيادة أو نقص مستوى الإصابة بدرجة غير مقبولة.

4 - عدم القدرة على التحكم فى العمر النباتى الذى تجرى عنده العدوى بالمسبب المرضى.

5 - احتمال الإصابة بأمراض أخرى، أو حشرات، أو التعرض لظروف بيئية قاسية يمكن أن تخفى أو تغير استجابة النباتات للإصابة بالمسبب المرضى المطلوب.

الاعتماد على العدوى الصناعية

يفضل عند إجراء العدوى الصناعية تحت ظروف الحقل زراعة نباتات مصابة بالمرض بين النباتات المختبرة لتكون مصدرًا دائما للعدوى، ويجرى ذلك - على سبيل المثال - فى اختبارات مقاومة القمح للفطر **Puccinia striiformis** المسبب لمرض الصدأ الأصفر، وبنجر السكر للفطر **Peronospora farinosa** المسبب لمرض البياض الزغبى (عن **Russell 1978**). أما توصيل المسبب المرضى بشكل مباشر إلى جميع النباتات فى الحقل، فإنه يتطلب كميات كبيرة من اللقاح.

ويلزم - فى حالة الأمراض التى تصيب أجزاء النبات الهوائية - إجراء العدوى فى الصباح الباكر، أو فى الأيام الملبدة بالغيوم. كذلك يحسن - فى حالة الجو الجاف - رش النباتات بالماء بعد العدوى (عن **Kiraly** وآخرين **1974**).

ويمكن أن يستعمل فى اختبارات العدوى الحقلية رشاشات ظهرية فى المساحات الصغيرة، أو رشاشات محمولة على الجرارات عند ضغط 10 كجم/سم2 فى المساحات الكبيرة، مع تنظيم وضع البشابير بحيث يرش كل خط من أعلى ومن جانبيه.

تجرى العدوى الحقلية فى بداية موسم النمو، وقد تكرر مرتين أو ثلاث مرات خلال الموسم، ويجب أن يتم ذلك فى وقت متأخر بعد الظهيرة حينما يكون من المتوقع حدوث ندى كثيف. كذلك يفيد تشغيل نظام الرى بالرش - إن وجد - على فترات متقطعة لمدة 2-3 أيام بعد العدوى - فى توفير رطوبة حرة لإنبات الجراثيم (عن Dhingra & Sinclair 1985).

وقد وجد Inglis وآخرون (1988) أن استعمال اللقاح الجاف لحقن الفاصوليا بأى من الفطرين: Colletotrichum lindemuthianum المسبب للأنثراكنوز، أو Phaeoisariopsis griseola المسبب لتبقع الأوراق الزاوى كان مناسبًا لاختبارات التقييم تحت ظروف الحقل، بدلاً من الرش بجراثيم الفطر، الذى يتطلب تحضير المعلق الفطرى قبل وقت قصير من إجراء العدوى الصناعية، ويستلزم كميات كبيرة منه لعدوى المساحات الحقلية الكبيرة. وقد استعمل الباحثون إما أوراقًا جافة لنباتات سبق عدواها بالفطر فى الصوبة، وإما مزارع مجففة للفطر على بيئة خاصة هى: Perlite- cornmeal V-8 juice agar. عُفِّرَت النباتات فى الحقل بأى من مصدرى العدوى، وكان كلاهما بنفس كفاءة العدوى بمعلق جراثيم الفطر فيما يتعلق باختبارات المقاومة الحقلية.

وتتميز أمراض الجذور والحزم الوعائية بإمكان عدوى الحقل بالمسبب المرضى مرة واحدة، ثم تكرار زراعته بنفس العائل سنويًا لإجراء اختبارات التقييم فيه أثناء برنامج التربية. فمثلا .. قام Wallace & Wilkinson (1965) بإجراء اختبارات التقييم للفطر Fusarium solani f. phaseoli - المسبب لمرض عفن الجذور الجاف فى الفاصوليا - فى حقل كان قد سبقت عدواه بالفطر فى عام 1918، وزرع بالفاصوليا سنويا منذ ذلك الحين.

هذا .. ويمكن الاستفادة من عديد من طرق الحقن (العدوى الصناعية) التى يأتى ذكرها فى الجزء التالى، فى نشر الإصابة المرضية تحت ظروف الحقل لأغراض تقييم مقاومة الأمراض.

طرق الحقن (العدوى الصناعية) لتقييم المقاومة فى البيوت المحمية (الصوبات)

تختلف طرق العدوى الصناعية التى تتبع لأغراض التقييم لمقاومة الأمراض تحت ظروف البيوت المحمية - حسب المرض - كما يلى:

عدوى النموات الورقية

تحقن النموات الخضرية بمسببات الأمراض بعديد من الطرق؛ منها: الرش، والتجريح، والتعفير، والحك، واستخدام فرشاة ملوثة بالمسبب المرضى مع استعمال معلق جراثيم فطرية، أو جراثيم جافة، أو معلق بكتيرى، أو مستخلصات لنباتات مصابة بالفيرس فى حالة اختبارات المقاومة للفيروسات.

لا تتطلب معظم مسببات الأمراض التى تصيب الأوراق جروحًا لكى تُحدث الإصابة؛ إذا إن معظمها يخترق الأوراق عن طريق الثغور، أو مباشرة من خلال خلايا البشرة، أو عند أماكن التصاق خلايا البشرة المتجاورة. وعندما تحدث الإصابة من خلال الثغور تجب إضافة اللقاح إلى السطح الورقى الذى توجد به أقصى كثافة للثغور، مع تحضين النباتات فى ظروف تسمح ببقاء الثغور مفتوحة، وبإنبات الجراثيم أو الخلايا البكتيرية.

ونذكر - فيما يلى - طرق الحقن المتبعة فى هذا الشأن سواء أكانت طرقًا عامة، أم خاصة بمسببات مرضية معينة.

عدوى الأوراق الفلقية

تتم أحيانا عدوى الأوراق الفلقية بالمسببات المرضية بهدف الانتهاء من اختبار التقييم فى أيام قليلة بعد الإنبات مباشرة، وبذا .. يمكن تقييم أعداد كبيرة من النباتات فى وقت قصير، وفى مساحة صغيرة. وتجب فى هذه الحالة مقارنة النتائج المتحصل عليها من اختبار عدوى الأوراق الفلقية بنتائج اختبار آخر تحقن فيه النباتات بطريقة تماثل الإصابة بالطريق الطبيعى، حتى لا تكون نتائج الاختبار مضللة.

وأهم ما يعيب العدوى بهذه الطريقة أن الأوراق الفلقية ربما لا تحتوى على المنافذ الطبيعية للإصابة بالمسبب المرضى، ويترتب على ذلك تصنيف بعض النباتات أو الأصناف على أنها مقاومة، بينما هى قابلة للإصابة، أو العكس.

وقد اتبعت هذه الطريقة فى تقييم السبانخ لمقاومة فيرس الخيار رقم 1 Cucumber Virus 1(Webb 1955)، والطماطم لمقاومة البكتيريا Corynebacterium michiganense المسببة لمرض التقرح البكتيرى (Hassan وآخرون 1968)، والبرسيم الحجازى لمقاومة البكتيريا C. insidiosum المسببة للذبول (Kreitlow 1963).

عدوى الأوراق بالفطريات

بالنسبة للأمراض الفطرية التى تصيب الأجزاء الهوائية للنبات فإن العدوى الصناعية قد تجرى بالرش بجراثيم أو هيفات الفطر، وهى معلقة فى الماء، أو فى زيت معدنى، فتستخدم معلقات الفطر فى الماء فى حالة الفطريات الطحلبية، ولكن الماء يكون ضارًّا لفطريات أخرى مثل فطريات البياض الدقيقى والأصداء، ولذا .. فإنها تعلق فى الزيوت المعدنية.

كما يمكن تعفير النباتات بالجراثيم الجافة للفطريات، وقد تستخدم لذلك فرشاة طلاء، أو أجهزة خاصة نُحمل فيها الجراثيم مع تيار من الهواء لتتوزع بتجانس على النباتات التى يُراد اختبارها وغالبا ما تخلط الجراثيم ببودرة التلك لتأمين تجانس توزيعها.

ويلزم فى كثير من الحالات إبقاء النباتات فى رطوبة نسبية عالية تقترب من 100% لمدة 12–24 ساعة بعد العدوى لتحفيز الإصابة والتجرثم. ويتحقق ذلك - تحت ظروف الحقل - إما عن طريق الرى بالرش، وإما بتنكيس نواقيس زجاجية على النباتات المعاملة، التى يُستفاد منها بعد ذلك فى انتشار الإصابة فى الحقل.

وقد أوضح Tu & Poysa (1990) أن عدوى أوراق نباتات الطماطم التى يراد اختبارها لمقاومة مرض تبقع الأوراق السبتورى بفرشاة سبق غمسها فى معلق لجراثيم الفطر Septoria lycopersici كان أفضل من غمس الأوراق فى المعلق أو رشها به مباشرة. استخدم فى العدوى معلق لجراثيم الفطر بتركيز مليون جرثومة بكل ملليلتر.

وقد استخدمت فرشاة من شعر الجمل فى عدوى الأوراق من السطحين. وأعقب ذلك وضع الأصص المحتوية على النباتات المحقونة فى صوانٍ بها طبقة رقيقة من الماء، وتغطية النباتات بشريحة بلاستيكية، ثم تركها فى صوبة على حرارة 24±2°م لمدة يومين. وقد ظهرت الاختلافات - فى شدة الإصابة - بين التراكيب الوراثية بعد ذلك بستة أيام أخرى، وكانت الإصابة متجانسة بدرجة أفضل مما كانت عليه الحال فى أى من طريقتى غمس، أو رش الأوراق فى معلق جراثيم الفطر.

عدوى الأوراق بالبكتيريا

يجب دائمًا التمييز بين الأعراض الطبيعية typical، وغير الطبيعية atypical عند عدوى الأنواع النباتية بمسببات الأمراض - خاصة البكتيرية منها - سواء أكانت الدراسة بهدف تحديد مدى العوائل، أو التقييم للمقاومة.

إن الأعراض غير الطبيعية تظهر - غالبًا - نتيجة لما يبديه النبات من مقاومة لهذه المسببات المرضية التى أدخلت فيه بوسائل صناعية خاطئة، أو نتيجة لاستعمال تركيزات عالية، وهى أعراض لا تظهر أبدًا فى الظروف الطبيعية. ولذا .. فإن اختيار طريقة العدوى وتركيز البكتيريا المناسبين أمران فى غاية الأهمية لتمييز النباتات المقاومة عن تلك القابلة للإصابة.

ويقدر أفضل تركيز للعدوى الصناعية، بالبكتيريا المسببة للأمراض بنحو 5 × 610 خلية بكتيرية أو أكثر من ذلك/ مل من المعلق البكتيرى؛ فعند استعمال هذا التركيز تكون كل خلايا أنسجة النبات المحقونة على اتصال بالطفيل.

وتفيد كثيراً تهيئة الظروف التى تجعل ثغور الأوراق مفتوحة عند الحقن بالبكتريا التى تُحدث بقعًا ورقية؛ ذلك لأن هذه البكتريا تمر إلى المسافات التى توجد بين الخلايا من خلال الثغور المفتوحة. ولأجل هذا .. يمكن وضع النبات فى مكان رطب مظلل؛ كان يوضع فوقه ناقوس زجاجى، أو يترك فى غرفة نمو رطبة لمدة 24 ساعة قبل العدوى الصناعية. ويمكن زيادة الرطوبة النسبية حول النبات بوضع ورق نشاف مبلل بالماء داخل الناقوس الزجاجى أو فى غرفة النمو.

يستخدم فى العدوى الصناعية بالبكتريا مزارع بكتيرية حديثة يتراوح عمرها من 24–48 ساعة. تغسل هذه المزارع بماء معقم، ويعدل تركيز المعلق البكتيرى حسب التركيز المطلوب الذى يتوقف على طريقة الحقن المتبعة، كما يلى:

يمكن زيادة شدة الإصابة ببعض الأنواع البكتيرية الممرضة للنباتات، مثل: Pseudomonas syringae pv. tomato - على الطماطم - بمعاملة الأوراق قبل عدواها بالبكتيريا بمذيبات الشمع، مثل 0.1% إثيربترولى، أو 0.001 مولار أيدروكسيد بوتاسيوم أو أيدروكسيد صوديوم.

ويفيد مجرد الضغط على الأوراق بين الأصابع بعد غمسها فى المعلق البكتيرى فى إحداث الإصابة، إلاّ أن الأضرار التى قد تنشأ عن زيادة الضغط تجعل من الصعب تقدير شدة الإصابة كميًّا.

1 - رش المعلق البكتيرى على سطح النبات:

يعتبر رش المعلق على الأوراق النباتية أفضل طريقة للعدوى الصناعية بالبكتيريا المسببة لتبقعات الأوراق؛ لأنها أقرب الطرق للعدوى الطبيعية. ويلزم فى هذه الحالة وضع النباتات فى حجرة نمو رطبة لمدة 24 ساعة قبل إجراء العدوى، أو تعريضها للرش بالرذاذ mist لعدة ساعات قبل العدوى. وتتم العدوى برش السطح السفلى للأوراق - تحت ضغط منخفض - بمعلق بكتيرى يحتوى على أكثر من 5 × 610 خلية بكتيرية/ مل. ولا يخشى - فى هذه الحالة - من ظهور أعراض مرضية غير طبيعية لأن نسبة قليلة فقط من الخلايا البكتيرية التى توجد فى المعلق هى التى يمكنها المرور إلى المسافات البيئية لخلايا النسيج الوسطى من خلال الثغور.

ونجد فى حالة عدم التوافق بين البكتيريا والنوع النباتى المستخدم أن البكتيريا تظهر نشاطها حول الثغور، حيث تظهر الأعراض غير الطبيعية فى مساحات ميكروسكوبية لا تُرى بالعين المجردة. أما فى حالة التوافق .. فإن الإصابة يمكن أن تنتشر بدرجة كبيرة إلى أن تظهر الأعراض المميزة للمرض.

يمكن رش المعلق البكتيرى تحت ضغط، ولكن يجب أن يؤخذ فى الاعتبار نوع الرشاشة، وشدة الضغط، والمسافة بين الرشاشة والسطح الورقى؛ فمثلاً .. تستخدم الرشاشة الصغيرة جدًّا atomizer أو رشاشة الطلاء تحت ضغط 1.5كجم/سم2، مع جعل الـ atomizer على مسافة 10–25سم من سطح الورقة. وبالمقارنة .. تستخدم artist's air brush تحت ضغط 2.5-3.0 كجم/سم2 مع جعلها على مسافة 3-6سم من سطح الورقة.

وإذا ما استعمل ضغط عالٍ فإن تركيز المعلق البكتيرى لا يجب أن يزيد عن 5×610 خلية/ مل حتى لا تجبر البكتيريا على المرور إلى المسافات البينية لخلايا نسيج الميزوفيل من خلال الثغور، وحتى لا يتولد عن ذلك تكوين أجزاء أو بقع متحللة فى النباتات المقاومة - أو تلك التى لاتعد من عوائل البكتيريا - جراء الأضرار التى يُحدثها اصطدام محول الرش بالورقة تحت ضغط.

وتفيد إضافة المواد المحدثة للجروح abrasives إلى الأوراق قبل رشها باللقاح البكتيرى فى تجنب الحاجة إلى استعمال ضغط عالٍ عند الرش، وخاصة عند عدوى الأوراق المغلفة بطبقة شمعية. ويستخدم لأجل ذلك الكاربورندم (300-600 مش mesh)، ويلزم - حينئذٍ - حك معلق اللقاح بلطف على سطح الورقة - بعد رشه - بالإصبع أو باستعمال قطعة قطن أو قطعة من الشاش.

وبعد العدوى بالبكتيريا .. يمكن وضع النباتات مرة أخرى فى حجرة النمو الرطبة التى يجب أن تقترب رطوبتها من 100%؛ فعلى سبيل المثال .. لم تظهر على أوراق الخيار التى حقنت بالبكتيريا P. lachrymans - المسببة لمرض تبقع الأوراق الزاوى - أية أعراض للإصابة عندما كانت الرطوبة النسبية 80–90% بعد العدوى، بينما ظهرت أعراض المرض الطبيعية عندما كانت الرطوبة النسبية 95 - 100%. تترك النباتات المعدية فى الرطوبة العالية لمدة 6–18 ساعة بعد العدوى الصناعية بالمسبب المرضى، ثم تنقل إلى بيت محمى بعد ذلك.

2 - حقن المعلق البكتيرى فى المسافات بين الخلايا:

تتم العدوى فى هذه الطريقة بحقن المعلق البكتيرى فى المسافات البينية لخلايا الورقة باستعمال محقنة طبية. يسمح ذلك بإدخال عدد معلوم من الخلايا البكتيرية بتجانس تام فى المسافات البينية دون إحداث ضرر لنسيج الورقة. يجرى الحقن من السطح السفلى للورقة. وتزداد سهولة حقن الأوراق مع زيادتها فى العمر. ومن الضرورى أن يكون الجزء المائل من سن الإبرة - الذى توجد به الفتحة - إلى أسفل (أى تحت خلايا البشرة السفلى مباشرة) عند الحقن، وأن يكون الحقن بين عروق الورقة. وتسمح هذه الطريقة باختبار عدة سلالات بكتيرية على نفس الورقة أو على أوراق مختلفة من نفس النبات.

3 - حك الأوراق:

يمكن إجراء العدوى بحك الأوراق التى سبق نثر الكربورندم عليها بقطعة من القطن أو الشاش يكون قد سبق غمسها فى المعلق البكتيرى.

يجب أن يزيد تركيز المعلق البكتيرى المستعمل عن مليون خلية بكل ملليلتر.

وبينما تفيد إضافة الكربورندم إلى المعلق البكتيرى المستخدم فى الرش فى زيادة شدة الإصابة، فإن ذلك قد يؤدى إلى ظهور بقع ومناطق متحللة غير طبيعية بالنباتات المقاومة.

4 - التثقيب الدقيق أثناء العدوى:

من بين الطرق التى تتأكد معها حدوث الإصابة بالبكتيريا إحداث ثقوب كثيرة دقيقة فى المسطح الذى يراد عدواه بالبكتيريا - سواء أكان ورقة، أم نسيج لحمى - وذلك قبل العدوى بالبكتيريا مباشرة، أو أثناءها. ويستعمل فى إحداث الجروح دبابيس دقيقة تبرز نهاياتها (حوالى 0.5سم) من قطعة فلين. وقد تستعمل قطعة الفلين (أو قطعة من الخشب أو الاستيروفوم) مباشرة أو تثبت فى أحد طرفى ماسك زجاجى، بينما تُثبت فى الطرف الآخر قطعة فلين أخرى بدون دبابيس حتى يمكن الضغط على الورقة بينهما. وتعرف هذه الطريقة باسم **pin- prick method**.

وقد جريت هذه الطريقة بنجاح فى أمراض البقع الورقية، والعفن الطرى، وأعفان الساق، والذبول، والتضخمات.

ومن الطرق الأخرى المماثلة الناجحة وضع الورقة المراد عدواها بين الإبهام وورقة سنفرة (بها حبيبات رمل بقطر 0.20-0.35مم) مبللة بالمعلق البكتيرى، مع الضغط على الورقة قليلاً لإحداث بعض الجروح بها (عن Dhingra & Sinclair 1985، وعن Greenleaf 1986).

عدوى الأوراق بالفيروسات بطريقة الرش تحت ضغط

تتعدد طرق الحقن بالفيروسات النباتية حسب طرق انتقالها، وهو ما نتناوله بالتفصيل فى موضع آخر من هذا الفصل، ونقصر حديثنا الآن على طريقة الرش تحت ضغط للحقن بالفيروسات.

تعرف هذه الطريقة باسم Spray Gun Method، وهى شديدة الفاعلية مع بعض الفيروسات مثل فيرس موزايك التبغ. ويلزم عند اتباعها إضافة الكاربورندم إلى العصير الخلوى المستخدم فى العدوى الصناعية بنسبة 5% بالحجم. ترش النباتات بقوة من على مسافة 8–10سم تحت ضغط 4-7كجم/سم2. ويمكن بهذه الطريقة عدوى مئات النباتات الصغيرة فى دقائق معدودة (عن Greenleaf 1986).

موجز لطرق عدوى الأوراق

يمكن إيجاز طرق إجراء العدوى (التلقيح أو الحقن) عن طريق الأوراق فيما يلى:

1 - تعد أبسط الطرق لعدوى الأوراق هى برش معلق من جراثيم المسبب المرضى الفطرى أو الخلايا البكتيرية - وهى فى ماء معقم، أو فى الزيت - على سطح الورقة. وعند استعمال الماء تجب إضافة مادة ناشرة مثل توين 20 Tween 20 أو تويـن 80 بتركيز 0.5%، أو صابون سائل بتركيز 0.1%. ويتعين اختبار إنبات الجراثيم فى تلك المحاليل قبل إجراء اختبارات العدوى. تؤدى إضافة المواد الناشرة إلى زيادة أعداد الأوراق التى تُصاب فى كل نبات، وزيادة شدة الإصابة وتجانسها، وخفض التباين فى الأعراض المرضية. ونجد عند رش الأوراق المغطاة بغطاء شمعى بالمعلق الجرثومى فى الماء دون استعمال المواد الناشرة - مع تحضين النباتات فى جو رطب - أن الرطوبة الحرة التى تتجمع على الورقة تكوِّن قطرات كبيرة لا تلبث أن تتدحرج آخذه معها الجراثيم التى لم تنبت بعد، أو أنها تتجمع عند قاعدة الأوراق أو أطرافها؛ مما يحد من شدة الإصابة ويجعلها تتركز فى مكان واحد من الورقة.

وتفيد فى اختبارات عدوى الأوراق إضافة مواد لاصقة، مثل: الجيلاتين بتركيز 0.5%، والآجار بتركيز 0.1% - 0.2%، وكربوكسى مثيل السيليلوز carboxymethyl cellulose بتركيز 0.2% - 0.5%؛ فهذه المواد تقوم - إلى جانب لصق الجراثيم بسطح الأوراق - بمنع جفاف الجراثيم، كما توفر لها قليلاً من الغذاء لأجل إنباتها.

يستمر رش الأوراق حتى يقطر منها محلول الرش، ويستثنى من ذلك الحالات التى يتعين فيها حفظ النباتات - بعد عدواها - فى رطوبة عالية، كما فى حالة العدوى بمسببات البياض الزغبى؛ إذ يكفى معها الرش العادى الخفيف.

ويناسب الرش على نطاق ضيق استعمال رشاشة صغيرة يتم توصيلها بمصدر لتوليد ضغط قدره 1-1.5 كجم/سم2، وهو الذى يعطى رذاذ دقيق مناسب للعدوى. أما فى المساحات الكبيرة، فيمكن استعمال رشاشة طلاء تُوصَّل بمصدر لتوليد الضغط مع توصيلها - كذلك - بمصدر اللقاح باستعمال أنبوبة مطاطية طويلة، أو قد تستعمل رشاشة حقلية لهذا الغرض.

أما استعمال الزيوت غير السامة للنباتات كمعلقات للجراثيم فإنه يفيد - خاصة - مع الجراثيم الجافة، باستثناء الجراثيم الكونيدية لفطريات البياض الدقيقى، وهى التى تفقد قدرتها على إحداث الإصابة لدى تعليقها فى الزيوت. وتستخدم الزيوت - خاصة - فى عدوى النجيليات بفطريات الأصداء.

2 - العدوى باستعمال الجراثيم المحمولة فى بودرة التلك:

يفيد حمل البذور فى بودرة التلك فى عدوى الأوراق بالجراثيم الجافة، ولكنها تتطلب كميات كبيرة من الجراثيم مقارنة باستعمال معلقات الجراثيم فى الماء أو فى الزيت. وتتبع هذه الطريقة - خاصة - فى العدوى بفطريات الأصداء، ويجرى ذلك باستعمال عفارة خاصة، مثل DeVillbis powder insufflator أو cyclone spore collector. تقوم العفارة الأخيرة بتجميع الجراثيم من الأوراق المصابة، ثم - بإعكاس اتجاه تيار الهواء - تقوم بتعفير تلك الجراثيم - وهى مختلطة بالتلك - على الأوراق التى يرغب فى عدواها. ويلى التعفير تحضين النباتات فى رطوبة عالية. وقد ترش النباتات بالماء أولاً - تحت ضغط - قبل تعفيرها بالجراثيم مع التلك.

3 - يفيد هز الأوراق المصابة على النباتات التى يرغب فى عدواها - أو حكها بها - فى إحداث العدوى بالمتطفلات الإجبارية، مثل فطريات البياض الدقيقى. وفى حالة استعمال هذه الطريقة مع فطريات الأصداء فإن النباتات ترش بالماء أولاً قبل حك الأوراق المصابة بها، ولا يجوز اتخاذ هذا الإجراء (الرش بالماء) مع فطريات البياض الدقيقى، أما فى حالة فطريات البياض الزغبى التى تُنتج جراثيمها ليلاً، والتى تكون حساسة للجفاف، فإن الأوراق التى تظهر عليها الجراثيم تجمع من الحقل فى الصباح أثناء وجود الندى، وتوضع على اتصال مباشر بأوراق النباتات التى يراد اختبارها.

4 - يفيد غمس الأوراق فى معلق لجراثيم الفطر فى اختبار أعداد كبيرة من البادرات التى تكون نامية فى أصيص واحد (عن Dhingra & Sinclair 1985).

العدوى عن طريق السيقان والجذور والأسطح المقطوعة

تُجرى العدوى (الحقن) عن طريق السيقان فى اختبارات المقاومة لأمراض الذبول الوعائية. وعلى الرغم من إمكان إتباع هذه الطريقة - كذلك - مع أمراض أعفان الجذور، والذبول الطرى، وعفن الرقبة، وعفن قاعدة الساق، والتقرحات، إلاّ أنه يتعين الحرص فى تفسير نتائجها لأن مقاومة مختلف الأعضاء النباتية قد تختلف بالنسبة للمسبب المرضى الواحد.

العدوى عن طريق السيقان

من بين الطرق الشائعة لحقن السيقان، ما يلى:

1 - عمل قطع عمودى بطول 1-1.5سم بالساق باستعمال مشرط حاد، ثم إضافة جزء صغير من مزرعة المسبب المرضى إليه. يجرى هذا القطع فى حالة أمراض الجذور التى تصيب السيقان على ارتفاع 2-10سم من سطح التربة. ويلى إضافة المسبب المرضى تغليف مكان الجرح جيدًا.

2 - غرز عود أسنان toothpick ملوث بالمسبب المرضى فى ساق النبات حتى عمق 1-2سم ثم قطع الجزء البارز منه وتغليفه جيدًا.

3 - غرز إبرة تشريح فى ساق النبات عند العقدة الثانية فوق عنق الورقة مباشرة، ثم إضافة نقطة من معلق جراثيم المسبب المرضى فى إبط الورقة بحيث تغطى مكان الجرح. وفى حالة الأمراض البكتيرية فإن نقطة المعلق البكتيرى تضاف قبل غرز الإبرة.

4 - العدوى بالمسببات المرضية البكتيرية بقطع أعناق الأوراق الصغيرة أو القمة النامية للبادرات ثم إضافة البكتيريا على مكان الجرح باستعمال ماصة أو فرشاة.

5 - تتبع كذلك طريقة حقن الساق باستخدام إبرة محقنة (سرنجة) سبق غمسها فى معلق المسبب المرضى، وذلك حتى عمق 2مم، فوق الأوراق الفلقية مباشرة، حيث تنسحب نقطة المعلق الجرثومى للمسبب المرضى الموجودة بالإبرة إلى داخل ساق النبات لدى سحب الإبرة (عن 1985 Dhingra & Sinclair).

العدوى بالبكتيريا بطريقة الوخز Pricking

يمكن عدوى السيقان أو الأجزاء اللحمية للنباتات بالبكتيريا بوخزها بإبرة أو تجريحها بمشرط سبق غمسه فى معلق للبكتيريا التى يُراد استخدامها فى العدوى، وهى أفضل الطرق للعدوى بأمراض الذبول البكتيرية وأعفان أعضاء التخزين. وتظهر أعراض الذبول الطبيعية عند اتباع هذه الطريقة أيًّا كان تركيز البكتيريا فى المعلق المستخدم.

ولعدوى أعداد كبيرة من النباتات بطريقة الوخز .. تثبت الإبرة وسط فرشاة بحيث يكون سن الإبرة دون مستوى أطراف شعر الفرشاة بقليل. وبغمس الفرشاة فى المعلق البكتيرى .. يمكن ضمان تلوث الإبرة بالبكتيريا بالقدر المناسب أثناء عدة وخزات متتالية. ويتم وخز النباتات الصغيرة - فى حالات أمراض الذبول - فى المنطقة التى تقع مابين الأوراق الفلقية والورقة الأولى.

وقد استخدم Hassan وآخرون (1986) هذه الطريقة فى تقييم الطماطم لمقاومة البكتيريا C. Michiganense المسببة لمرض التقرح البكتيرى.

العدوى بالبكتيريا عن طريق الأسطح المقطوعة

تجرى العدوى بأمراض الذبول البكتيرية بقطع نحو 1-2سم من الجذور، ثم غمسها - بعد ذلك مباشرة - فى المعلق البكتيرى المناسب لمدة ساعتين، ثم تشتل النباتات فى التربة.

كما قد تجرى العدوى فى حالة أمراض الذبول أيضًا بطريقة أخرى تكسر فيها أعناق بعض الأوراق الصغيرة، أو بعض الفروع الصغيرة، ثم يوضع المعلق البكتيرى على مكان القطع بواسطة فرشاة أو ماصة.

وتجرى العدوى فى حالات أمراض الأعفان الطرية بعمل قطع فى عضو التخزين (الثمرة أو الجذور، أو الدرنة ... إلخ) بمشرط أو نصل سكين معقم، ثم يوضع المعلق البكتيربعلى مكان القطع. وتوضع الأعضاء النباتية المحقونة بهذه الطريقة فى مكان رطب لمدة 48 ساعة بعد الحقن (Kiraly وآخرون 1974).

العدوى عن طريق الجذور

تحدث الإصابة الطبيعية والصناعية بأمراض الجذور والحزم الوعائية عن طريق التربة، ولكن العدوى الصناعية بأمراض الحزم الوعائية يمكن إحداثها عن طريق كل من الجذور والسيقان على حدًّ سواء، كما يلى:

1 - تجرى العدوى الصناعية عن طريق التربة فى حالات الأمراض التى تحدث الإصابة الطبيعية فيها عن طريق الجذور، وتعيش مسبباتها فى التربة، مثل أمراض الذبول، وأعفان الجذور، وتتألل الجذور فى الصليبيات، وتتألل البطاطس ... إلخ. تجرى العدوى الصناعية لتربة الحقل، أو الصوبة بالمسبب المرضى، ويحافظ على اللقاح فيها باستمرار زراعة صنف قابل للإصابة بهذا المسبب المرضى سنويًّا.

2 - لا يلزم فى معظم أمراض الذبول تقطيع الجذور لكى تحدث الإصابة، إلا أنه يُنصح بهذا الإجراء أحيانًا لزيادة تجانس الإصابة (Walker 1966)، كما يكون التجريح ضروريا فى حالات أخرى كما فى الذبول الفيوزارى فى البطاطا، حيث يوصى - عند إجراء اختبار التقييم للمقاومة - بغمر قواعد العقل الطرفية لسيقان البطاطا فى معلق لجراثيم الفطر، مع هرس تلك القواعد بآله حادة (Hanna وآخرون 1961).

3 - يفضل إجراء اختبارات التقييم للنيماتودا - بالنسبة للأنواع النباتية التى يسهل شتلها - فى صوانى إنتاج شتلات speedling trays تُملأ عيونها بمخلوط زراعة يتكون من البيت موس والفيرميكيوليت. تستعمل لأجل ذلك صوانٍ ذات عيون واسعة لكى تسمح بتكوين نمو جذرى جيد يكون من السهل تقييمه جيدًا. يضاف إلى كل عين 2000 بيضة عند زراعة البذور أو عند وضع البادرات فيها. توضع الصوانى على سنّادات حديدية أو من قوالب الطوب لكى لا ترتكز على الأرض؛ وبذا يسهل تقليم جذورها التى تبرز منها (عن Fassuliotis 1985).

4 - بينما يسهل عدوى المجموع الجذرى للنباتات التى تشتل - مثل الطماطم والفلفل - حيث يغمر المجموع الجذرى فى معلق للمسبب المرضى قبل الشتل، فإنه قد يستحيل إجراء ذلك بالنسبة للمحاصيل التى يصعب شتلها مثل الفاصوليا. وقد تغلب Wallace & Wilkinson (1965) على هذه المشكلة عند تقييمهما الفاصوليا لمقاومة الفطر F. solani f. phaseoli المسبب لمرض عفن الجذور الجاف بإجراء اختبارات التقييم فى أصص بقطر 15سم مثبت فى قمتها حلقة ورقية (مبطنة بالبوليثيلين) بارتفاع 6سم، وتملأ بالفيرميكيوليت. تزرع البذور على سطح التربة فى الأصيص، ثم يضاف الفيرميكيوليت. بعد الإنبات .. تجرى العدوى بإضافة معلق جراثيم الفطر إلى الفيرميكيوليت. وعند تقييم النباتات .. تزال الحلقة الورقية وما بداخلها من فيرميكيوليت، ثم تقدر درجة الإصابة فى السويقة الجنينية السفلى للنباتات؛ حيث يمكن - حينئذ - التخلص من النباتات القابلة للإصابة والإبقاء على النباتات المقاومة. وقد اتبعت هذه الطريقة فى دراسة المقاومة لكل من مرضى العفن الجاف والعفن الأسود فى الفاصوليا (Hassan وآخرون 1971 أ، ب).

5 - تزداد المشكلة تعقيدًا بالنسبة للنباتات الصعبة الشتل - كالفاصوليا - حينما لا يكون هناك مناص من فحص الجذور لتقدير شدة الإصابة، حيث يتعذر حينئذٍ الاستفادة من النباتات المقاومة بعد تقليعها - لفحص جذورها - خاصة وأن عملية التقييم لا يمكن إجراؤها قبل مضى شهر أو شهر ونصف الشهر من زراعة البذور.

وقد توصل Wyatt & Fassuliotis (1979) إلى طريقة تسمح بالاستفادة من النباتات المرغوب فيها المنتخبة، والمحافظة عليها، ليمكن تهجينها، أو تركها لتتلقح ذاتيا. وتتلخص تلك الطريقة فى عدوى تربة "البنشات" فى الصوبة، وزراعة الفاصوليا فى أصص من البيت موس أو الفخار مملوءة بتربة غير معدية بالنيماتودا، ثم دفن هذه الأصص فى تربة (البنش). تنمو - نتيجة لذلك - بعض الجذور من الثقوب التى توجد بأسفل الأصيص، حيث تتعرض للإصابة بالنيماتودا، وبذا .. يمكن تقييمها مع الإبقاء على النباتات المقاومة التى تحتفظ بجذورها فى الأصص.

وقد تمت عدوى تربة (البنشات) فى الطريقـة السابقـة بمعلق من بيـض النيماتودا M. incognita فى قاع حُفَرَ عمق كل منها 10سم، وقطرها 8سم وموزعة كل 20سم فى صفوف تبعد عن بعضها البعض بمقدار 30سم، بحيث يصل إلى كل حفرة نحو 1200 بيضة من النيماتودا. وكانت أصص البيت المستخدمة فى الزراعة بقطر 7.6سم، وثُقِّبت من القاع بقطر 2.2 سم. وضعت هذه الأصص فى الحفر التى أضيف إليها اللقاح فى تربة (البنشات). وزرع بكل أصيص ثلاث بذور، ثم أجريت عملية الخف على نبات واحد بعد الإنبات. وقد سجلت شدة الإصابة على الجذور التى نمت من قاع الأصص بعد 35، و 45، و 55 يومًا من زراعة البذور.

كذلك استخدمت أصص فخارية زرعت فيها بذور سبق استنباتها على مهاد ورقية إلى أن وصل طول النمو الجذرى فيها إلى 6–8سم، مع إبراز طرف الجذير من قاع الأصيص قبل تغطية البادرة بالتربة. وقد كانت تلك الطريقة أفضل من طريقة أصص البيت؛ لأن الجذور كانت نافذة من قاع الأصص منذ البداية، وكان التقييم - فى جميع النباتات - على الجذر الرئيسى، وبذا .. فإنه كان متجانسًا.

وكان من أبرز عيوب تلك الطريقة ما يلى:

أ - اعتمد التقييم - فى الحالات التى لم ينم فيها الجذر الرئيسى من قاع الأصيص - على إصابة الجـذور الرفيعـة التى نفذت من القاع؛ الأمـر الذى لا يجعل التقييم دقيقًا.

ب - نادرًا ما أصيبت الجذور التى نفدت من جوانب الأصص بالنيماتودا، حيث لم يتوفر لها الوقت الكافى لذلك.

جـ - لم تتحمل أصص البيت تأخير عملية التقييم إلى 45 أو 55 يومًا من الزراعة؛ حيث كان من الصعب تداول الأصص آنذاك، وغالبًا ما أضير المجموع الجذرى للنباتات عندما نُزعت الأصص من مكانها فى تلك المرحلة، حيث ذبلت النباتات، إلا أنها عادت إلى حالتها الطبيعية خلال يوم أو يومين عندما كان الفحص بعد 35–45 يومًا من الزراعة.

ويلجأ البعض إلى تقييم نباتات الفاصوليا لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور عندما يبلغ عمرها خمسين يوما، وذلك عندما تكون القرون ناضجة جزئيًّا، ولكن يعيب على تلك الطريقة ما يلى:

أ - تكون البذور التى تنتجها تلك النباتات ضعيفة، وتعطى بادرات بطيئة النمو، مقارنة بالبذور المكتملة النمو.

ب - لا تسمح هذه الطريقة بتلقيح النباتات المنتخبة رجعيًّا، أو مع نباتات أخرى مرغوب فيها.

جـ - قد تتعرض جذور النباتات المنتجة - فى تلك المرحلة من النمو - للإصابة ببعض الفطريات المسببة للعفن، مما يحدث تلفًا فى قشرة الجذور يصعب معه التقييم للمقاومة.

ومن الطرق الأخرى التى استخدمت لتقييم نباتات الفاصوليا لنيماتودا تعقد الجذور إجراء الزراعة والعدوى الصناعية فى أحواض زجاجية شفافة؛ كتلك التى تستخدم فى دراسات نمو الجذور، وبذا .. يمكن ملاحظة تكوين الثآليل مباشرة.

موجز لطرق عدوى الجذور

يمكن تلخيص طرق إجراء العدوى (التلقيح أو الحقن) عن طريق الجذور فيما يلى:

1 - الزراعة فى أرض مصابة طبيعيًّا أو سبق تلويثها بالمسبب المرضى.

2 - استخدام المزارع المائية:

عند اتباع طريقة المزارع المائية تُنتج البادرات أولاً فى بيئية معقمة، ثم تُنقل إلى محلول مغذٍ. وقد تُحقن الجذور بالمسبب المرضى إما بغمسها فى معلق منه قبل نقلها إلى المحلول المغذى، وإما بإضافة المسبب المرضى إلى المحلول المغذى ذاته. وغالبًا ما يُستعمل محلول هوجلند المغذى، ولكن بربع أو بنصف تركيزه القياسى. يفيد التركيز المنخفض فى سرعة ظهور الأعراض المرضية، إلاّ أن التركيز الشديد الانخفاض قد يؤدى إلى ظهور أعراض نقص بعض العناصر، وهى التى قد تختلط على بعض الأعراض المرضية.

3 - طريقة غمس الجذور:

يمكن اتباع طريقة غمس الجذور فى معلق المسبب المرضى مع غالبية المسببات التى تصيب الجذور. يتم إنتاج البادرات أولاً فى بيئة معقمة، ثم تغمس جذورها فى معلق من جراثيم المسبب المرضى لمدة تتراوح بين ساعة واحدة إلى 24 ساعة حسب العائل والمسبب المرضى. يلى ذلك شتل البادرات فى بيئة مناسبة. وتؤثر فترة الغمس على الشدة التى تظهر بها أعراض المرض.

4 - طريقة القطع والغمس:

تستخدم طريقة قطع الجذور قبل غمسها فى معلق المسبب المرضى فى اختبارات المقاومة لمسببات الذبول، ولكنها تُميِّز فقط بين المستويات العالية والمنخفضة من المقاومة. ولإجراء هذه الطريقة يُقطع نحو 3–4سم من أطراف جذور البادرات التى يكون قد سبق إنتاجها فى بيئية معقمة، وذلك قبل غمسها فى معلق المسبب المرضى، ثم شتلها. وفى حالة البكتيريا المسببة للذبول الوعائى تُقطع الجذور على بعد سنتيمتر واحد من أطرافها، ثم تُغمس فى المعلق البكتيرى لمدة 10-60 ثانية، أو تقطع الجذور أثناء غمسها فى المعلق. وقد يجرى الحقن بقطع أطراف جذور البادرات ثم شتلها فى صوانى الشتلات مع إضافة حوالى 2-4 مل من المعلق لكل عين قبل الشتل فيها. كذلك فإن الجذور قد تُجَّرح أثناء غمسها فى المعلق البكتيرى.

5 - طريقة التجريح العميق:

تتبع طريقة التجريح العميق للجذور مع مسببات أمراض الذبول الوعائية، وفيها يغمد مشرط عدة مرات فى الكومبوست المحيط بجذور البادرات، ثم يضاف معلق جراثيم المسبب المرضى. ويفيد منع أو تقليل الرى قبل العدوى فى زيادة احتفاظ بيئة الزراعة بمعلق المسبب المرضى عند إضافته.

6 - حقن الجذور الخشبية الكبيرة:

عند الرغبة فى حقن الجذور الخشبية المسنة يتم تتبعها نحو نهاياتها حتى نصل إلى النقطة التى تكون فيها الجذور بقطر 1-2سم، حيث تُزال من الجذور شريحة سطحية بطول سنتيمتر واحد بامتداد أحد جوانبه، ويلى ذلك إضافة جزء من بيئة أجار للمسبب المرضى، ثم تغطيتها جيدًا، وربطها قبل ردم التربة على الجذر مرة أخرى.

7 - حقن الجذور دون التأثير على وضعها الطبيعى فى التربة:

قد تؤدى عملية الشتل إلى إحداث أضرار بالجذور؛ مما قد لا يمثل العلاقة الطبيعية بين العائل والمسبب المرضى فى بعض الحالات. وفى حالات كهذه تجرى العدوى بإضافة معلق المسبب المرضى إلى بيئة نمو الجذور مباشرة، أو تُخلَّص الجذور من بيئة الزراعة بحرص شديد حتى لا تتقطع، ثم تُرش بمعلق جراثيم المسبب المرضى أو تغمس فيه قبل إعادة زراعتها من جديد.

وبالإضافة إلى الطرق التى تقدم بيانها فإنه يمكن توفير المسبب المرضى الذى يصيب النبات عن طريق الجذور بتلويث البذور سطحيًّا به.

تتبع تلك الطريقة فى اختبارات المقاومة لبعض أمراض أعفان الجذور، وتتم بتطهير البذور سطحيًّا، ثم نقعها فى معلق مركز للمسبب المرضى لمدة ساعة واحدة إلى 24 ساعة، ثم زراعتها (عن Dhingra & Sinclair 1985).

عدوى البذور

تتبع طريقة عدوى البذور فى اختبارات المقاومة لأمراض البذور، والأمراض التى تنتقل عن طريق البذور، وأمراض الذبول الطرى السابق للإنبات والتالى له، وأعفان الجذور، وأعفان قاعدة الساق، والأمراض ذات الطبيعة الجهازية مثل التفحمات. ويعتبر استخدام الجراثيم أفضل من الغزل الفطرى، كما تعتبر العدوى تحت تفريغ (150-200مم زئبق) أفضل من مجرد غمس البذور فى معلق جراثيم الفطر. ويراعى - فى كل الحالات - عدم زيادة أعداد الجراثيم التى تصل إلى البذور على الحد المناسب.

وحقيقة الأمر أن ما يحدث فى هذه الطريقة هو تلويث للبذور بالمسبب المرضى (وليس إصابتها به)؛ بحيث يكون الطفيل قريبا من العائل منذ المراحل الأولى لإنبات البذور. وتجرى هذه الطريقة خاصة عند العدوى بفطريات التفحم المغطى فى النجيليات.

تستخدم فى حالة التفحمات الجراثيم الكلاميدية والتيليتية. وفى البداية تغمر البذور فى محلول فورمالين بتركيز 0.3% لمدة ساعة، ثم تغسل فى ماء صنبور جارٍ لمدة 30 دقيقة لتطهيرها تمامًا من أى تلوث سطحى. ويلى ذلك تجفيف البذور لمدة 24 ساعة على °20م، ثم يرج 100جم من البذرة مع 0.5-1.0جم من الجراثيم

ويجرى الاختبار لمقاومة البياض الزغبى بتغليف البذور بالجراثيم البيضية، ثم زراعتها (عن 1985 Dhingra & Sinclair).

عدوى الأزهار

تتبع طريقة عدوى الأزهار - أساسًا - مع مسببات أمراض أعفان الكوز فى الذرة والسورجم، وكذلك فى حالات التفحم السائب، وفى مرض الإرجوت فى الشيلم. تعدى النورات الزهرية وقت تفتح الأزهار بجراثيم الفطر بالرش، أو بالتعفير، أو بالحقن، حيث ينتقل الفطر من مياسم الأزهار إلى الأجنة التى تتكون بعد الإخصاب (عن Kiraly وآخرين 1974). فمثلاً .. تستعمل الرشاشات الحقلية لعدوى الشيلم فى الحقل بالفطر Claviceps المسبب لمرض الإرجوت، وتحقن جراثيم التفحم السائب فى نورة نبات القمح باستعمال محقنة تحت جلدية، وتعدى نورات القمح والشعير بجراثيم التفحم السائب تحت تفريغ. ويتعين فى حالات الرش بجراثيم الفطر تغطية النورات بكيس بلاستيكى لمدة 24–72 ساعة بعد المعاملة.

عدوى الثمار

لا تفضل عدوى الثمار إذا أمكن تقييم النباتات عن طريق الأجزاء النباتية الأخرى فى طور مبكر من النمو، لأن عدوى الثمار يتطلب الانتظار وقتا طويلا إلى أن تثمر النباتات، كما أن وصول النباتات إلى هذه المرحلة المتقدمة من النمو يتطلب مساحات أكبر من الوحدات التجريبية لإجراء عملية التقييم. وبالرغم من ذلك .. فإنه يلزم عدوى الثمار ذاتها فى بعض الأحيان، كما فى مرض الأنثراكنوز فى الطماطم.

وقد حصل Robbins & Angell (1971) على 95% إصابة بالأنثراكنوز فى ثمار صنف الطماطم Heinz 1350 بوضع نقطة صغيرة من معلق جراثيم الفطر على سطح الثمرة بواسطة محقنة، ثم ثقب بشرة الثمرة تحت نقطة المعلق بإبرة المحقنة. وقد ظهرت أعراض المرض فى حرارة الغرفة وفى الرطوبة الجوية العادية، وبذا .. لم تكن هناك حاجة إلى التحكم فى درجات الحرارة أو الرطوبة الجوية.

الطرق المختبرية لتقييم مقاومة النباتات للأمراض

تتعدد الطرق المختبرية المستخدمة فى تقييم مقاومة النباتات للأمراض، ومن أمثلتها ما يلى:

عدوى الأوراق المفصولة

تتبع طريقة عدوى الأوراق المفصولة عن النبات (detached leaves) مع كثير من المسببات المرضية الفطرية، مثل فطريات الأصداء، والبياض الزغبى، والبياض الدقيقى، وتبقع الأوراق السركسبورى. ولاتباع هذه الطريقة تُعَوَّم الأوراق على محلول سكروز بتركيز 1-3% فى ماء معقم، وتجرى العدوى برش جراثيم الفطر، أو نثرها جافة على سطح الورقة التى تعرض لإضاءة شدتها 100 قدم - شمعة لمدة 12-24 ساعة، مع حرارة 20ْ-24م. ويمكن - إضافة 50 جزءًا فى المليون من الـ benzimidazole؛ لتبيط نمو الكائنات المترممة.

وقد أمكن عدوى الأوراق الأولية للفاصوليا بأى من الفطرين Botrytis cinerea، أو Sclerotinia sclerotiorum، وذلك برش الأوراق المفصولة بمعلق لجراثيم الفطر بتركيز مليونَ جرثومة / مل من محلول فوسفات غير عضوى منظم (KH2PO4 بتركيز 62.5 مللى مول) (Leone & Tonneijck 1990).

التقييم بسموم المسببات المرضية

يمكن اتباع هذه الطريقة تحت ظروف الصوبات كذلك، وفيها تستخدم السموم Toxins التى تفرزها المسببات المرضية أثناء نموها فى البيئات الصناعية فى تقييم النباتات لمقاومة الأمراض التى تحدثها تلك المسببات المرضية، إذا إنها تتسبب - فى بعض الحالات - فى أحداث أعراض مماثلة للأعراض التى تحدثها الإصابة بالمسبب المرضى ذاته.

كان أول استخدام لهذه الطريقة فى التقييم للمقاومة للفطر **Helminthosporium victoriae** فى الشوفان كما يلى: نقعت بذور الشوفان لمدة نصف ساعة فى الماء، ثم وضعت فى طبقة بسمك 12 مم داخل أحواض خشبية، وحوفظ عليها مبتلة على حرارة 27°م لمدة يومين، ثم رشت بعد ذلك بمحلول سُم الفطر، ثم أبقيت على نفس درجة الحرارة لمدة يومين آخرين. اختبر بهذه الطريقة أكثر من 100 بوشل من البذور (حوالى 4.5×710 بذرة شوفان) خلال أربعة أيام. وقد ظهرت بادرات خالية من أعراض المرض بمعدل 50 بادرة لكل بوشل من البذور، وتبين من الاختبارات التالية بالفطر ذاته أن 92% من هذه البادرات كانت مقاومة فعلا للمرض (Wheeler & Luke 1955).

وقد أوضحت الدراسات التالية لذلك أن هذا الُّسم الفطرى - الذى أطلق عليه اسم Victorin - يسبب تلفًا كبيرا للأغشية الخلوية بالأصناف القابلة للإصابة، بينما لم يكن له تأثير يذكر فى الأصناف المقاومة. كما تبين أن مقاومة النباتات لهذا السم الفطرى كانت بسيطة وسائدة.

كذلك وجد أن النواتج الأيضية لبيئة الفطر المسبب لمرض الذبول الفيوزارى فى الكرنب (السلالة 1)، والفطر المسبب لذبول الفجل (السلالة 2) تُحدِثُ أعراضًا مرضية شبيهة بالأعراض الأولى للمرض لدى إضافتها إلى مزارع رملية للنباتات القابلة للإصابة. وقد أحدثت إفرازات السلالة 1 أعراض المرض فى كل من الكرنب والفجل، بينما أحدثت إفرازات السلالة 2 أعراض المرض فى الفجل فقط، وهو ما يتمشى مع حقيقة أن السلالة 1 تصيب كلا من العائلين، بينما تصيب السلالة 2 الفجل فقط (عن Walker 1965).

وأمكن عزل بروتين من راشح مزارع سلالة رقم 1 من الفطر **Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici** أدى - عند المعاملة به - إلى قتل بروتوبلاستات التراكيب الوراثية القابلة للإصابة بتركيزات منخفضة فى حدود ميكروجرام / مل، بينما كانت بروتوبلاستات الأصناف المقاومة لتلك السلالة أقل حساسية لهذا البروتين بأكثر من 100 مرة (Strange 1993).

وقد اختبر Kuti & Ng (1989) مقاومة الفطر Myrothecium roridum فى القاوون بعدوى الأوراق المفصولة؛ إما بالفطر ذاته، وإما بالمركب roridin E - وهو من إفرازات الفطر السامة لنبات القاوون - وتبين وجود اختلافات وراثية بين النباتات المختبرة فى تحملها لكل من الفطر وإفرازاته السامة، وكان معامل الارتباط بينهما 0.94.

ومن أهم الأمراض النباتية (الفطرية) التى تظهر أعراضها نتيجة لإفراز مسبباتها لسموم خاصة ما يلى (عن Daly & Knoche 1982):

الفطر المسبب للمرض	العائل
Alternaria kikuchiana	الكمثرى
A. mali	التفاح
A. citri	البرتقال - اليوسفى - الليمون المخرفش
A. alternata	الفراولة
A. alternata f. sp. lycopersisci	الطماطم
Helminthosporium victoriae	الشوفان

الفطر المسبب للمرض	العائل
H. carbonum	الذرة
H. maydis	الذرة
H. sacchari	قصب السكر
Periconia circinata	الذرة الرفيعة
Phyllosticta maydis	الذرة الشامية

وغالبا ما تكون المقاومة لسموم المسببات المرضية صفة وراثية بسيطة.

وتقسم السموم التى تفرزها الفطريات التى تصيب النباتات إلى ثلاث فئات، كما يلى (جدول 8–6):

1- السموم الخاصة بعوائل معينة

تكون السموم الخاصة بعوائل معينة host-selective toxins سامَّة - فقط - للعوائل التى تصيبها الفطريات المفرزة لتلك السموم، ومن أمثلتها السُمّ T-toxin الذى يفرزه الفطر Cochliobolus heterostrophus، والذى يؤدى إلى تلف الأغشية الخلوية فى الذرة؛ ومن ثم توقف إنتاج الـ ATP وموت الخلايا، والسُمّ Victorin، الذى يفرزه الفطر C. victoriae، والذى يؤدى إلى وقف نشاط الميتوكوندريات فى الشوفان. أما السم HC-toxin الذى يفرزه الفطر C. carbonum فيعتقد بأنه يلعب دورًا فى تثبيط القدرة الدفاعية للذرة وإحداث تغييرات فى التعبير الجينى. وبالمقارنة - فإن الفطر Alternaria alternata يفرز مالا يقل عن سبعة سموم مختلفة فى عوائله المختلفة يتخصص كل منها على العائل الذى يُفرز فيه، وجميعها تؤدى إلى موت الخلايا، ولكن بثلاث طرق مختلفة، هى: التأثير فى الأغشية البلازمية، والتأثير فى الميتوكوندريات، وخفض عملية تثبيت ثانى أكسيد الكربون أثناء البناء الضوئى؛ هذا بالإضافة إلى تأثيرات أخرى لبعض من تلك السموم تنتهى - هى الأخرى - بموت الخلايا.

2 - السموم التى لا تختص بعوائل معينة

إن السموم التى لا تختص بعوائل معينة host non-selective toxins يمكنها إحداث أضرار لكل من عائل - أو عوائل - المسببات المرضية المفرزه للسموم، وكذلك لأنواع نباتية أخرى لا تُصاب - عادة - بها، وهى تُنتج أعراضًا تتشابه فيما بينها إلى حد كبير، حيث تكون - غالبًا - على صورة بقع خضراء مصفرة، أو ذبول، أو كلا العرضين معًا. ويحدث ذلك بسبب حث السموم النبات لتكوين مركبات نشطة فى الأكسدة تحدث أضرارًا بالأغشية الخلوية.

جدول (8-6): بعض الأمثلة لأنواع السموم التى تفرزها الفطريات التى تصيب النباتات (عن Dickinson 2003).

نوع السُمّ والعائل الذى يُفرز فيه	اسم السُمّ	الفطر المفرز للسُمّ
سموم متخصصة تفرز فى عوائل معينة:		
الشوفان	Victorin	Cochliobolus victoriae
الذرة	T-toxin	C. heterostrophus
الذرة	HC-toxin	C. carbonum
قصب السكر	HS-toxin	C. sacchari
القمح	Ptr	Pyrenophora tritici
الكمثرى اليابانية	AK	Alternaria alternata
التانجارين	ACT	A. alternata
الفراولة	AF	A. alternata
التفاح	AM	A. alternata
الطماطم	AAL	A. alternata f. sp. lycopersici

سموم غير متخصصة ليست خاصة بعوائل معينة:		
اللوز	**Fusicoccin**	**Fusicoccum amygdali**
عدة أنواع نباتية	**Cercosporin**	**Cercospora spp.**
عدة أنواع نباتية	**Tentoxin**	**Alternaria spp.**
البسلة	**Naphthazarins**	**Nectaria haematococca**
الصنوبريات	**Dothistromin**	**Dothistroma septospora**
الميكوتوكسينات mycotoxins .. تفرز فى:		
الحبوب	**Aflatoxins**	**Aspegillus flavus**
الذرة	**Fumonisin**	**Fusarium moniliforme**
النجيليات	**Ergot alkaloids**	**Claviceps purpurea**
الحبوب	**Trichothecines**	**Fusarium spp.**

ومن أمثلة تلك السموم: الـ cercosporin الذى يُفرزه عددًا من أنواع الجنس Cercospora، وسموم الـ perylenequinone التى تفرزها فطريات ممرضة للنباتات، مثل A. alternata، و Cladosporium spp.

3 - الميكوتوكسينات

تُنتج الميكوتوكسينات **mycotoxins** بواسطة بعض الفطريات التى تصيب النباتات، ولكنها لا تُحدث أضرارًا بها، وإنما تكون ضارة جدًّا بالثدييات التى تتناولها فى غذائها، وهى على أربعة أنواع (تظهر فى جدول 8-6) تتباين فى أضرارها ما بين إحداث الغرغرينة (كما فى قلوانيات الإرجوت **ergot alkaloids**)، وسرطان الكبد (كما فى الأفلاتوكسينات **aflatoxins**) (عن **Dickinson 2003**).

هذا .. وينتج عديد من أنواع الجنسين **Alternaria**، و **Helminthosporium** سمومًا تكون فعالة على عوائلها - فقط - دون أى نباتات أخرى. ولقد كان أول ما اكتشف من السموم الفطرية المتخصصة تلك التى ينتجها الفطر **A. kikuchiana**، حيث لا تكون أصناف الكمثرى قابلة للإصابة بهذا الفطر إلاّ إذا كانت حساسة لأى من طرازى السم (شكل 8-1).

شكل (8-1): طراز السم المتخصص على الكمثرى الذى يفرزه الفطر **Alternaria kikuchiana**. الطراز I فيه R = CH3، والطراز II فيه R = H (عن **Strange 1993**).

كذلك فإن أصناف الشوفان الحساسة للسم victorin الذى ينتجه الفطر H. victoriae هى فقط التى تكون قابلة للإصابة بالفطر (شكل 8–2)، كما أن نوعًا آخر من الجنس Helminthosporium - هو H. carbonum - يصيب الذرة وينتج السم المتخصص HC.

شكل (2-8): التركيب الكيميائى للسم المتخصص victorin C الذى يفرزه الفطر Helminthosporium victoriae فى أصناف الشوفان.

ولقد سمحت خاصية التوافق الجنسى بين نوعى الفطر Helminthosporium بإجراء دراسة وراثية على خاصية إنتاج السموم بنوعيها، حيث هُجِّنَ النوعان معًا واختبر النسل الناتج للقدرة على إصابة الشوفان والذرة، وعلى إنتاج السموم المتخصصة. وقد أوضحت الدراسة حدوث انعزال فى نسل الفطريات الأحادية فى خاصية إنتاج السموم بنسبة 1:1:1:1 للقدرة على إنتاج كلا السمين، والـ victorin فقط، والـ HC فقط، وعدم القدرة على إنتاج أيهما، على التوالى. وكانت تلك التراكيب الوراثية المنعزلة قادرة على إصابة كلا المحصولين، والشوفان فقط، والذرة فقط، أو لم تكن قادرة على إصابة أيهما، على التوالى. كذلك تبين أن إضافة السم المناسب للجراثيم غير المنتجه له جعلتها قادرة على إصابة النباتات الحساسة لذلك السم (عن Strange 1993).

وتبعا لما أسلفنا بيانه فإن امتلاك العائل لجين خاص بالحساسية للسم تعد وظيفة إيجابية تماثل خاصية امتلاك جين للمقاومة، على الرغم من أن الشكل المظهرى الناتج فى الحالة الأولى هو القابلية للإصابة. وتتضح تلك الصورة جليًّا فى حالة الفطر H. victoriae والشوفان؛ ففى ثلاثينيات القرن العشرين قام مربو الشوفان بإنتاج أصناف مقاومة للفطر Puccinia coronata f. sp. avenae المسبب لصدأ التاج، واستُخدم كمصدر للمقاومة الصنف Victoria الذى وجد أنه يحتوى على جين يتحكم فى المقاومة لهذا الفطر. ولدهشة الباحثين وجُد أن هذا الجين يتحكم - كذلك - فى صفة أخرى هى القابلية للإصابة بالفطر H. victoriae. وقد فشلت محاولات الفصل بين هاتين الوظيفتين للجين؛ بما يعنى أن الناتج الوحيد لهذا الجين يتعرف على كل من ناتج جين عدم الضراوة للفطر P. coronata f. sp. avenae وعلى سم الفطر H. victoriae؛ ويترتب على ذلك ظهور حالة المقاومة للفطر الأول وحالة القابلية للإصابة بالفطر الثانى (عن Strange 1993).

وترجع أهمية اختبارات المقاومة التى تجرى باستعمال سموم المسببات المرضية إلى إمكان تقييم أعداد هائلة من البذور والبادرات بيسر وسهولة خلال فترة زمنية وجيزة وفى مساحة صغيرة. ويفضل عند اتباع هذه الطريقة استخدام تركيزات منخفضة نسبيًّا من سموم المسببات المرضية فى البداية؛ حتى لا يقضى على جميع التراكيب الوراثية التى قد تكون على درجات متوسطة من المقاومة، ثم تُعَّرض هذه النباتات - أو أنسالها - لتركيزات أعلى من السموم بعد ذلك (Durbin 1981).

هذا .. إلا أنه يجب الحذر من أن استخدام إفرازات أو سموم المسببات المرضية فى تقييم المقاومة للأمراض قد يؤدى إلى نتائج خاطئة. فمثلا .. وجد أن الفطر Verticillium albo-atrum يصيب كلا من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة، ويمتد أعلى الساق، لكن لا تظهر أعراض المرض إلا فى الأصناف القابلة للإصابة فقط، وهى التى يفرز فيها الفطر سمومه التى تحدث الأعراض المشاهدة؛ أى إن المقاومة ترجع إلى قدرة النباتات المقاومة على الحد من إفراز الفطر لسمومه فيها؛ وبذا .. فإن استعمال سموم الفطر فى تقييم المقاومة فى حالات كهذه - يؤدى إلى نتائج خاطئة.

ولمزيد من التفاصيل عن سموم مسببات الأمراض النباتية واستخداماتها فى تقييم المقاومة .. يراجع Durbin (1981)، و Daly & Knoche (1982)، و Upadhyay & Mukerji (1997).

استعمال مزارع الأنسجة فى اختبارات مقاومة الأمراض

يلجأ مربو النبات إلى إجراء اختبارات مقاومة الأمراض فى مزارع الأنسجة؛ بهدف تقييم الجيرمبلازم للمقاومة أحيانًا، وبهدف انتخاب التباينات الوراثية المقاومة - التى قد تتوفر فى مزارع الأنسجة - فى أغلب الأحيان. ولذا .. فإننا نؤجل مناقشة هذا الموضوع إلى الفصل التالى الخاص بطرق التربية لمقاومة الأمرض.

تقييم المقاومة عن طريق دراسة الأيزو إنزيمات

حدث تقدم كبير فى طريقة التقييم لنيماتودا تعقد الجذور فى الطماطم بعد أن قام Rick & Fobes عام 1974 بدراسة الإنزيمات المتشابهة isoenzymes التى توجد فى الطماطم، وفصلها بطريقة الـ starch gel electrophoresis، وقد تبين لهما أن صنف الطماطم VFN8، وخمسة أصناف أخرى - مقاومة لنيماتودا تعقد الجذور - تختلف عن باقى الأصناف المختبرة - التى كانت قابلة للإصابة بالنيماتودا - فى الأيزوإنزيمات الخاصة بالـ acid phosphate، فكانت الأصناف القابلة للإصابة تحمل الآليل +Aps-1، بينما احتوت الأصناف المقاومة على الآليل Aps-11. هذا .. مع العلم بأن الآليل الأخير لم يكن معروفا قبل ذلك إلا فى النوع البرى L. peruvianum.

وبتلقيح نبات مقاوم للنيماتودا ذى تركيب وراثى Aps-11 Aps-11 مع نبات آخر قابل للإصابة ذى تركيب وراثى +Aps-1 +Aps-1 انعزل الجيل الثانى إلى ++، و +1، و 11 بنسبة 16: 19: 10، على التوالى، وكانت النباتات ذات التركيب الوراثى ++ وحدها هى القابلة للإصابة بالنيماتودا. ولذا .. افترض وجود علاقـة بين الآليل Aps-11 والمقاومة مردّها إما إلى وجود تأثير متعدد للجين، وإما إلى وجود ارتباط وثيق بين هذا الجين والجين المسئول عن المقاومة،

لكن الاحتمال الأول استبعد بعد اكتشاف وجود الآليل +Aps-1 فى بعض النباتات المقاومة. وبذا .. تأكد أن العلاقة ليست سوى ارتباط وثيق بين الجين Aps-11 والجين Mi المسئول عن المقاومة للنيماتودا.

وتدل المشاهدات على أن هذا الارتباط لابد وأن يكون وثيقًا لأن الجينين انتقلا معا من النوع البرى L. peruvianum إلى الصنف VFN8، ثم إلى الأصناف الأخرى المقاومة للنيماتودا بعده، بالرغم من إجراء عديد من التلقيحات الرجعية. إلا أن الجين Aps-11 لا يوجد إلا فى الأصناف التى حصلت على مقاومتها من الصنف VFN8، بينما يوجد الجين +Aps-1 فى الصنف المقاوم Anahu وجميع الأصناف التى حصلت على مقاومتها منه، مما يدل على أن العبور حدث فى الأجيال المبكرة أثناء إنتاج الصنف Anahu. وعندما لقح الصنفان المقاومان Short Red Cherry (وتركيبه الوراثى Aps-11 Aps-11) مع الصنف Nematex (وتركيبه الوراثى +Aps-1+ Aps-1) كانت جميع نباتات الجيل الثانى مقاومة للنيماتودا، بينما انعزلت بالنسبة للموقع الجينى Aps-1؛ الأمر الذى يفيد اشتراكهما فى نفس جين المقاومة.

ولكى يمكن الاستفادة من هذا الارتباط الشديد بين جين مقاومة النيماتودا Mi، والجين Aps-1 .. فإن النباتات التى تُستخدم كمصدر للمقاومة يجب أن يكون تركيبها الوراثى Aps 11 Aps 11. ويتوفر هذا التركيب الوراثى فى الصنف VFN8 والأصناف الأخرى التى حصلت على مقاومتها منه. ويجرى التقييم بسهولة كبيرة بالاستعانة بطريقة الفصل الكهربائى Electrophoresis التى يمكن بواسطتها تمييز التراكيب الوراثية Aps-11 Aps-11، و +Aps-11 Aps-1، و +Aps1+ Aps1 عن بعضها البعض، وهى التى تكون - على التوالى - مقاومة أصيلة، ومقاومة خليطة، وقابلة للإصابة أصيلة بسبب الارتباط الشديد بين الجين Mi، و Aps-1.

يستخدم للاختبار - أى جزء من أنسجة النباتات المختبرة، وإن كان التقييم يجرى - عادة - على بادرات عمرها ثلاثة أسابيع. يعمل الفصل الكهربائى على تمييز الأيزوإنزيمات isoenzymes التى يتحكم فى إنتاجها الآليلان Aps-11، و +Aps-1.

وتتميز طريقة التقييم هذه لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور بما يلى:

1 - التوفير فى الوقت والجهد.

2 - لا يلزم إجراء اختبار النسل للتميز بين النباتات المقاومة الأصيلة والمقاومة الخليطة، لأن اختبار التقييم يميز بينهما مباشرة.

3 - يمكن انتخاب النباتات المقاومة فى طور البادرة، ثم شتلها فى الحقل؛ لتقييم الصفات البستانية، وهو ما يصعب تحقيقه عند إجراء تقييم المقاومة بالطريقة العادية.

4 - يمكن تقييم النباتات للمقاومة فى أى وقت، وفى أية مرحلة للنمو من بداية الإنبات حتى الحصاد. كما يمكن إجراء التقييم على عينات الأوراق المجمدة، وعلى المتوك الجافة للنباتات التى تؤخذ منها البذور.

5 - يمكن إجراء الاختبار بسرعة على نباتات يبلغ عمرها ثلاثة أسابيع مع الحصول على نتائج مؤكدة، بينما يلزم مرور من 6-10 أسابيع ليمكن إجراء الاختبار بالطريقة العادية، مع احتمال فقدان بعض النباتات بسبب الإصابة بالذبول الطرى، وإفلات البعض الآخر من الإصابة بالنيماتودا.

6 - يمكن لشخص واحد تقييم نحو 140 نباتًا يوميًّا.

7 - يمكن التعاون بين موقعين بحثيين بإجراء اختبار المقاومة بهذه الطريقة فى أحدهما، وتقييم النباتات المنتخبة للصفات البستانية فى الموقع الآخر.

هذا .. ويعطى Medina Filho & Stevens (1980) التفاصيل العملية لتقييم المقاومة للنيماتودا بهذه الطريقة باستعمال الـ Starch Gel Electrophoresis.

وقد أمكن باستخدام إنزيم الأسيد فوسفاتيز acid phosphatase isozyme (Aps-1) - كجين معلم لجين المقاومة للنيماتودا Mi - وكذلك استخدام معلمات دنا DNA markers - مثل Rex-1 - أمكن نقل الجين Mi إلى عديد من أصناف الطماطم الجديدة. كما أمكن عن طريقها - وكذلك معلمات دنا أخرى - تحديد موقع الجين Mi بدقة فى الذراع القصير لكروموسوم الطماطم السادس (عن Williamson 1998).

طرق انتقال الفيروسات النباتية

تتنوع كثيراً الطرق التى تنتقل بها الفيروسات النباتية، ولكن كل فيرس منها يتميز بأن له طريقة أو طرقًا معينة ينتقل بها لا يمكنه الانتقال بغيرها. وتفيد دراسة تلك الطرق فيما يلى:

1 - التعرف على أفضل الطرق لمكافحة الفيرس، وهى التى تعتمد على منع انتقال الإصابة أصلا.

2 - تمكين الباحثين من إجراء كافة الدراسات التى تعتمد على العدوى الصناعية بالفيرس؛ بما فى ذلك دراسات التربية لمقاومة الفيرس.

3 - تعد وسيلة - أو وسائل - انتقال الفيرس من الخصائص المميزة التى تفيد فى تحديد هوية الفيرس.

ونقدم - فيما يلى - شرحا للطرق التى تنتقل بها الفيروسات النباتية.

الانتقال الميكانيكى Mechanical Transmission بالعصير الخلوى

على الرغم من أن العصير الخلوى للأوراق المصابة يعد هو المصدر الرئيسى للفيروسات فى حالات الحقن الميكانيكى، فإنه يجب عدم إهمال الأنسجة النباتية الأخرى نظرًا لما يحتويه العصير الخلوى غالبًا من مثبطات فيروسية؛ فمثلا .. تعد بتلات أزهار الخيار مصدرًا أفضل لفيرس موزايك الخيار عن الأوراق التى تكثر بها المثبطات الفيروسية، وتعد جذور التبغ أكثر محتوى لفيرس تحلل التبغ TNV عن الأوراق.

إن الانتقال بالعصير الخلوى (Sap Transmission) يجرى بإضافة المستخلص النباتى المحتوى على الفيرس (اللقاح Inoculum) على سطح أوراق نباتات سليمة. ولأجل نفاذ جزيئات الفيرس إلى داخل النسيج الورقى للنبات السليم .. يلزم تجريح سطح الورقة (طبقتا الأديم، والبشرة) صناعيًّا.

وعندما يكون النبات المحقون بهذه الطريقة قابلاً للإصابة .. فإنه قد يستجيب للعدوى بأى مما يلى:

1 - ظهور بقع موضعية (محلية) Local Lesions على الأوراق المعدية بالفيرس.

2 - ظهور أعراض جهازية Systemic Symptoms كالتبرقش، والموزايك، وتشوهات الأوراق، والبقع الموضعية المنتشرة فى كل أجزاء النبات.

3 - عدم ظهور أية أعراض:

يلاحظ فى الحالة الأخيرة أن الفيرس يتكاثر داخل النبات، برغم عدم ظهور أية أعراض عليه، ويرجع ذلك إما إلى أن العائل يتحمل الإصابة Tolerant بالفيرس، وإما لتأثير العوامل البيئية التى قد تخفى أعراض الإصابة.

وبالمقارنة بالحالات السابقة التى يكون فيها العائل قابلا للإصابة .. فإن العدوى الميكانيكية لا يترتب عليها ظهور أية أعراض مرضية فى حالتين أخريين؛ هما:

1 - حالة المقاومة Resistance:

وفيها ينجح الفيرس فى دخول النبات ولكن لا يمكنه التكاثر فيه، ولا ينتقل إلى أجزاء أخرى منه.

2 - حالة المناعة Immunity:

وفيها لا يتمكن الفيرس من مجرد دخول النبات.

وتجدر الإشارة إلى أن الفيروسات لا تنتقل جميعها ميكانيكيا، برغم شيوع تلك الوسيلة للانتقال بين الفيروسات النباتية؛ فلا تنتقل - عادة ميكانيكيا - الفيروسات التى تنتقل بواسطة نطاطات الأوراق، والذباب الأبيض، وكذلك الفيروسات المتبقية (المثابرة) Persistent وشبه المتبقية (شبه المثابرة) Semipersistent التى تنتقل بواسطة المنّ.

ونتناول - فيما يلى - موضوع الانتقال الميكانيكى من الأوجه التالية:

أولاً: اختيار العوائل الدالة على الفيرس

تعطى العوائل الدالة على الفيرس Indicator Hosts أعراضًا مميزة عند عدواها به. ويمكن - عند استخدام مجموعة منها - التمييز بين الفيروسات على أساس اختلاف تلك العوائل فى مقاومتها (مناعتها) وقابليتها للإصابة بمختلف الفيروسات.

وأكثر النباتات الدالة استخداما هي:

(يصاب بأكثر من 40 فيرسا)	Chenopodium amaranticolor
Chenopodium quinoa	
Cucumis sativus	
Datura stramonium	
Gomphrena globosa	
Nicotiana benthamiana	
Nicotiana glutinosa	
’Xanthi‘Nicotiana tabacum	
’Samsun‘Nicotiana tabacum	
’Pinto‘Phaseolus vulgaris	
Vicia faba	
Vigna ungiculata	

ويمكن الحصول على بذور الأنواع غير المتوفرة لدى الباحث من تلك العوائل الدالة من :
Plant Introduction
Germplasm Resources Laboratory
Agricultural Research Center
Beltsville, MD.
U.S.A.

ويتعين عند إكثار بذور هذه الأنواع النباتية أن يجرى ذلك فى صوبة سلكية منيعة ضد الحشرات.

ومن المعروف أن خفض شدة الإضاءة يزيد من قابلية بعض النباتات للإصابة ببعض الفيروسات؛ ولذا يوصى بإبقاء نباتات العوائل الدالة فى الظلام لعدة ساعات، أو ليوم أو يومين، لأن ذلك قد يزيد من قابليتها للإصابة.

وللتخلص من الطفيليات والفيروسات التى تعيش فى التربة .. يتعين تعقيم التربة - التى تزرع فيها النباتات - بالبخار على 100°م لمدة نصف ساعة.

كما يتعين عن إجراء الاختبار أن تكون الزراعة فى صوبة خالية من الحشرات، أو فى صوبة سلكية منيعة ضد الحشرات، وأن تعزل النباتات السليمة بمفردها فى حجرة منفصلة، لكى لا يصل إليها الفيرس من النباتات المصابة، وأن ترش جميع النباتات فى الصوبة دوريًّا بالمبيدات الحشرية المناسبة لمنع تكاثر الحشرات.

ثانيا: تحضير اللقاح

إن اللقاح هو العصير الخلوى الذى يستخلص من النباتات المصابة. ويتعين - عند اختبار الأوراق المصابة التى يستخلص منها الفيرس - أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان:

1 - ليس من الضرورى أن يكون محتوى الأوراق من الفيرس مرتبطًا - دائمًا - بشدة الأعراض التى تظهر عليها.

2 - توجد التركيزات العالية من الفيرس - غالبًا - فى الأنسجة الحديثة.

3 - لا يمكن انتقال بعض الفيروسات إلا فى أوقات معينة من السنة.

ولاستخلاص العصير الخلوى .. تسحق الأوراق المصابة فى هاون صينى مع محلول منظم مناسب بنسبة جزء من الأوراق: 2– 5 أجزاء من المنظم. وأكثر المحاليل المنظمة استخداما منظم الفوسفات بتركيز0.01 مولار و pH= 7.0.

ويحضر منظم الفوسفات بتحضير محلولين كما يلى:

محلول(أ): 1.36جم KH_2PO_4 فى 1000 مل ماء.

محلول (ب): 1.78جم $Na_2HPO_4 .2H_2O$ فى 1000 مل ماء.

يخلط 51.0 مل من محلول (ب) مع 49.0 مل من محلول (أ) لنحصل على 100 مل من منظم الفوسفات بتركيز 0.01 مولار، و pH= 7.0.

وتفيد كثيرًا إضافة مادة محدثة للجروح Abrasive إما إلى سطح الأوراق قبل عدواها بالفيرس، وإما إلى اللقاح ذاته، لإحداث الجروح التى يدخل من خلالها الفيرس إلى النبات.

ويعد الكربورندم Carborandum أكثر المواد استخدامًا فى هذا الشأن، وهو عبارة عن مسحوق كربيد السيليكون Silicon Carbide (400-600مش Mesh .. أى تنفذ حبيباته من غرابيل دقيقة تحتوى على 400-600 ثقب بكل بوصة طولية) مع السيليت Celite. ويستخدم الكاربورندم - فى حالة إضافته إلى اللقاح - بنسبة 0.5-1.0% على أساس الحجم.

وتحتوى عديد من النباتات على مركبات يؤدى وجودها فى العصير الخلوى المستخلص من النباتات المصابة إلى تثبيط نشاط الفيروسات، أو تقليل فاعليتها فى إحداث الإصابة، أو الحد من كفاءة انتقالها. ويمكن تجنب تأثير هذه المركبات باستعمال ما يعرف بالإضافات المثبتة Stabilizing Additives؛ وهى مواد تعمل إضافتها إلى اللقاح - على تثبيت فاعلية الفيروسات حتى مع وجود المركبات المثبتة لها فى العصير الخلوى.

ومن المركبات المستخدمة فى هذا المجال ما يلى:

المركب	التركيز
Ethylenediamine tetraacetic acid trisodium salt (EDTA)	0.1-0.0005 مولارًا
Thioglycollic acid (TGA)	0.1-0.01 مولارًا
2- Mercaptoethanol (MCE)	0.15-0.015 مولارًا
Sodium diethyldithiocarbamate (DIECA)	0.1-0.01 مولارًا
Ascorbic acid (Vitamin C)	0.17-0.02 مولارًا
Sodium sulfite (Na_2SO_3)	0.05-0.02 مولارًا
Bovine serum albumine	%0.01

تضاف أى من المركبات السابقة فى حدود مجال التركيز الموضح قرين كل منها. ويتوقف اختيار المركب والتركيز على كل من الفيرس والعائل المستخلص منه.

ثالثًا: طريقة التلقيح (العدوى) الميكانيكية

تجرى الطريقة الروتينية للعدوى الميكانيكية بالفيرس كما يلى: يسحق نحو 3جم من الأوراق المصابة بالفيرس مع 10-20مل من محلول منظم الفوسفات (pH= 7.0) فى هاون صينى معقم. يضاف EDTA، أو DIECA كمادة مثبتة. يحك المعلق على سطح الأوراق السليمة للعوائل الدالة بعد نثر قليل من الكربورندم على سطحها، ويلى ذلك غسيل الأوراق المعدية بالماء.

ويجب أن تؤخذ الأمور التالية فى الحسبان عند إجراء العدوى الميكانيكية:

1 - يعدى نباتان - على الأقل - من كل من العوائل الدالة، مع الاحتفاظ بنبات آخر سليم من كل منها لمقارنة النمو الطبيعى بما قد يظهر من أعراض على النباتات المعدية.

2 - قد يساعد إبقاء نباتات العوائل الدالة فى الظلام (لعدة ساعات، أو ليوم أو يومين قبل عدواها بالفيرس) على زيادة قابليتها للإصابة.

3 - تكون النباتات الصغيرة - بوجهٍ عام - أكثر قابلية للإصابة بالفيروسات من النباتات الكبيرة العمر.

4 - تكون النباتات - بوجهٍ عام - أكثر قابلية للإصابة بعد الظهر.

5 - تجرى العدوى على السطح العلوى للأوراق، وتختلف الورقة المناسبة باختلاف العائل، فهى الأوراق الأولية فى البسلة والفاصوليا، والفلقات فى الخيار، والأوراق الرابعة إلى الثامنة فى الـ Chenopodium، وأية ورقة على النبات فى مرحلتى نمو الورقتين الحقيقيتين الثالثة والرابعة فى التبغ، وعند تكوين زوج الأوراق الأول والثانى فى الداتورة.

6 - يجب أن تكون الزجاجيات المستخدمة فى عملية العدوى معقمة، ويجرى التعقيم فى الأتوكليف على 120°م لمدة 30 دقيقة، أو بوضع الزجاجيات فى ماء يغلى لمدة ثلاث ساعات.

7 - إما أن ينثر الكربورندم على سطح الأوراق قبل عدواها بالفيرس، وإما أن يضاف إلى اللقاح ذاته.

8 - تجرى عملية العدوى بحك اللقاح على سطح الورقة برفق، مع استعمال قطعة من القطن، أو قطعة ذات عدة طبقات من الشاش، أو قضيب زجاجى ذى نهاية مبططة.

9 - يجب غسيل الأوراق بالماء بعد العدوى مباشرة، إذ يُعتقد أن ذلك يساعد على التخلص من السموم الطبيعية التى قد توجد فى اللقاح وتعيق الإصابة الفيروسية، كما يفيد فى تقليل الأضرار التى قد تحدثها المركبات الكيميائية التى تضاف إلى اللقاح، وتساعد على وضوح أعراض الإصابة فيما بعد.

10 - يؤدى وضع النباتات فى الظلام لعدة ساعات - بعد عدواها بالفيرس - إلى جعلها أكثر قابلية للإصابة، وأسرع فى ظهور الأعراض عليها.

11 - يجب تجفيف الأوراق سريعًا بعد غسيلها، ويجرى ذلك إما باستعمال تيار هوائى من رشاشة يدوية صغيرة atomizer، وإما باستعمال ورق نشاف.

رابعًا: ظهور وتسجيل أعراض الإصابة

تجب ملاحظة النباتات يوميًّا لعدة أسابيع، وتمتد الفترة لعدة شهور فى حالة النباتات الخشبية، مع مقارنة الأعراض المشاهدة بمظهر النباتات السليمة النامية تحت نفس الظروف. تظهر على كثير من النباتات بقع موضعية، إلا أن أعراضًا أخرى قد تظهر كذلك. ويجب التمييز بين الأعراض المحلية التى تظهر على الأوراق التى تمت عدواها بالفيرس، والأعراض الجهازية التى تظهر على الأجزاء الأخرى من النبات.

ونذكر - فيما يلى - أكثر الأعراض ظهورا، والرموز التى تستخدم فى الإشارة إليها.

الأعراض	الرمـز
بقع موضعية (أو محلية) Local lesions	LL
بقع موضعية متحللة necrotic local lesions	nLL
بقع موضعية مصفرة chlorotic local lesions	cLL
شفافية العروق vein clearing	Vc
موزايك mosaic	M
تبرقش mottle	Mo
تحلل جهازى systemic necrosis	N
تشوه malformation	Mal
بقع حلقية ringspot	RS

خامسًا: اختبار النقط الموضعية

يستخدم اختبار النقط الموضعية Local Lesion Assay فى قياس تركيز الفيروسات النباتية كميًّا. ويبنى هذا الاختبار على أساس أن بعض العوائل تستجيب للعدوى ببعض الفيروسات بتكوين بقع محلية متحللة منفردة. وقد يستمر الوضع المحلى المنفرد لهذه البقع، أو تتجمع وتلتحم معا، أو تصبح الإصابة جهازية، ويتوقف ذلك على الفيرس والعائل. وعند استخدام المجال المناسب من تركيز الفيرس، فإن اختبار النقط الموضعية يعطى دليلاً قويًّا على تركيزه فى المصدر الأصلى (اللقاح أو العصير الخلوى للنبات المصاب)

ومن أهم العوامل التى يتعين أخذها فى الحسبان عند إجراء هذا الاختبار ما يلى:

1 - أن تكون جميع النباتات المستخدمة فى الاختبار بعمر واحد، وحجم واحد، ولون واحد، وحصلت على معاملات سمادية واحدة.

2 - تقليل عدد أوراق النبات - بالتقليم - إلى أربع أوراق أو خمس فقط، مع إزالة القمة النامية فى حالة استعمال N. glutinosa.

3 - قد يكون من المفضل إجراء المقارنات بين أنصاف الأوراق المتقابلة، لأن النتائج تكون أكثر دقة، إذ إن الاختبار يلزمه - فى هذه الحالة - عدد أقل من النباتات. والأفضل من ذلك اختيار أحد تحضيرات الفيرس ليكون قياسيًّا واستعماله فى عدوى أنصاف الأوراق، بينما تعدى الأنصاف المقابلة لها بالتحضيرات الأخرى، وبذا .. يمكن مقارنة كل تحضير بالتحضير القياسى، ومقارنة مختلف التحضيرات ببعضها البعض بطريقة غير مباشرة من خلال نتائج التحضير القياسى.

4 - يمكن استعمال تصميم المربع اللاتينى دونما حاجة إلى تكرار استعمال التحضير القياسى .. فإذا كان لدينا خمسة تحضيرات للفيرس، فإنها تستخدم فى عدوى خمس أوراق بكل من خمسة نباتات (خمس مكررات)، بحيث يختلف ترتيب الأوراق المستخدمة فى العدوى بكل من التحضيرات الخمسة حسب شروط المربع اللاتينى.

5 - يحسن فى حالة استعمال أنصاف الأوراق أن يعدى بالتحضير الواحد النصف الأيسر لإحدى الأوراق، والنصف الأيمن لورقة أخرى؛ لمعادلة حالة عدم التوازن التى قد تنشأ نتيجة لعدم تداول النصفين بنفس الكيفية.

6 - يلزم الحرص الشديد عند استعمال الكربورندم حتى لا تُضار الأوراق.

7 - التزام الحرص عند حك الأوراق، مع مراعاة تجانس عملية الحك.

8 - غسل الأوراق أو أنصاف الأوراق بالماء بعد الحقن مباشرة، على ألا تزيد فترة الغسيل على 2 - 3 ثوان.

9 - اختيار العائل المناسب للاختبار بعناية، فمثلا تستخدم الفاصوليا، و Nicotiana glutinosa مع فيرس موزايك التبغ، و Gomphrena globosa مع فيرس إكس البطاطس (Smith 1977).

ولمزيد من التفاصيل عن العوامل التى تؤثر فى عملية الانتقال الميكانيكى .. يراجع Hull (2002).

الانتقال بالتطعيم

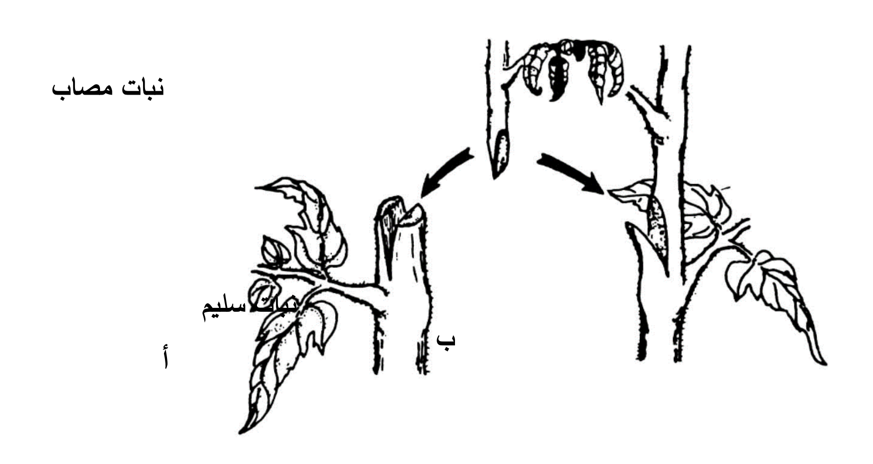
تنتقل كل الفيروسات بواسطة التطعيم. وتجرى عملية التطعيم باستخدام شفرة حلاقة حادة (للأنسجة الحديثة)، أو مشرط حاد (للأنسجة الخشبية)، وشريط بلاستيكى بعرض حوالى سنتيمترين. ويجب تطهير الشفرة أو المشرط باللهب قبل استعمالها.

ونذكر - فيما يلى - أهم طرق التطعيم المستخدمة فى الدراسات الفيروسية.

1 - التطعيم بالشق Cleft Grafts .. ويوجد منه نوعان (شكل 8-3).

أ - التطعيم بالشق القمى Top Cleft Grafting .. يعرف كذلك باسم Clelt Grafting. وهذه الطريقة شائعة الاستعمال مع كل من النباتات العشبية والخشبية، وهى تجرى بقطع قمة النبات المصاب، ثم عمل شق يمر بمركز الساق لعمق 2-3سم. ويلى ذلك قطع قاعدة الطعم (الذى يؤخذ من نبات سليم) على شكل وتد بطول يتناسب مع عمق الشق، وتثبيته بإحكام فى الشق، ثم لف منطقة الاتصال بالشريط البلاستيكى. تلاحظ أعراض الإصابة بعد ذلك فى النموات الجديدة التى تظهر على الطعم، ويفيد قطع قمة النمو فى الطعم - بعد نجاح التطعيم - فى تكوين نموات جانبية جديدة تكون أعراض الإصابة عليها أكثر وضوحًا.

ب - التطعيم بالشق الجانبى Side Cleft Grafting .. ويجرى بعمل شق جانبى مائل فى ساق النبات المصاب (الأصل) تثبت فيه بإحكام قطعة من ساق النبات السليم (الطعم) تكون جهزت قاعدتها على شكل وتد، ثم تلف منطقة الاتصال بشريط بلاستيكى.



شكل (8-3): التطعيم بالشق: (أ) القمى، (ب) الجانبى.

2 - التطعيم باللصق Approach Graft:

يجرى التطعيم باللصق بقطع جزأين طوليين متقابلين ومتساويين من ساقى النباتين المصاب والسليم، مع مراعاة تساوى الساقين فى السمك، ووصول القطع فى كل منهما إلى الكامبيوم. يلى ذلك ضم الساقين معا عند منطقة القطع، ولف منطقة الاتصال بشريط بلاستيكى (شكل 8-4). ولتشجيع تكوين نموات جانبية حديثة على النبات السليم (حيث يكون ظهور الأعراض عليها أكثر وضوحا) .. تقطع قمته النامية.



شكل (8-4): التطعيم باللصق.

الانتقال بواسطة الحامول

ينتمى الحامول dodder إلى الجنس Cuscuta، وهو من النباتات المتطفلة التى تعتمد فى غذائها على غيرها من النباتات، حيث تلتصق بها، ثم ترسل بداخلها ممصات Haustoria جذرية الشكل. وتوجد عدة أنواع من الجنس Cuscuta تعرف بقدرتها على نقل الفيروسات من النباتات المصابة إلى السليمة، وأكثرها شيوعا كل من C. campestris، و C. subinclusa.

ولإجراء اختبار نقل فيرس ما .. تنمى نباتات حامول من البذرة لضمان خلوها من الفيرس، ثم يوضع الحامول مجاورًا وملامسا للنبات المصاب بالفيرس، حيث يلف الحامول ساقه حول ساق وأوراق النبات المصاب بالفيرس، ويرسل بداخله الممصات التى يعتمد عليها فى الحصول على غذائه منه. ويعنى ذلك انتقال العصير الخلوى من النبات المصاب بالفيرس إلى الحامول. وعندما يتم التأكد من حدوث الاتصال البيولوجى بين النباتين .. توجه ساق الحامول نحو النبات السليم، حيث يتصل به بيولوجيا كذلك، ويتبع ذلك انتقال الفيرس إليه إذا كان من الفيروسات التى تنتقل خلال الحامول.

الانتقال بواسطة الحشرات

يوجد من بين أقسام قبيلة مفصليات الأرجل Arthopoda قسمان بهما أفراد قادرة على التغذية على النباتات الخضراء، هما: قسم العناكب Arachnida، وقسم الحشرات Insecta، وكلاهما يضم أفرادًا قادرة على نقل الفيروسات.

وتتواجد أكثر النواقل الفيروسية - من حيث العدد - فى رتبة متشابهة الأجنحة Homoptera التى تضم المن، ونطاطات الأوراق، ونطاطات النباتات، والذباب الأبيض، والبق المغبَّر mealybugs، وجميعها تحتوى على أجزاء فم ثاقبة ماصة تكون مثالية لنقل الفيروسات من النباتات المصابة إلى السليمة.

أولاً: الأمور العامة

1 - التجهيزات والأدوات اللازمة:

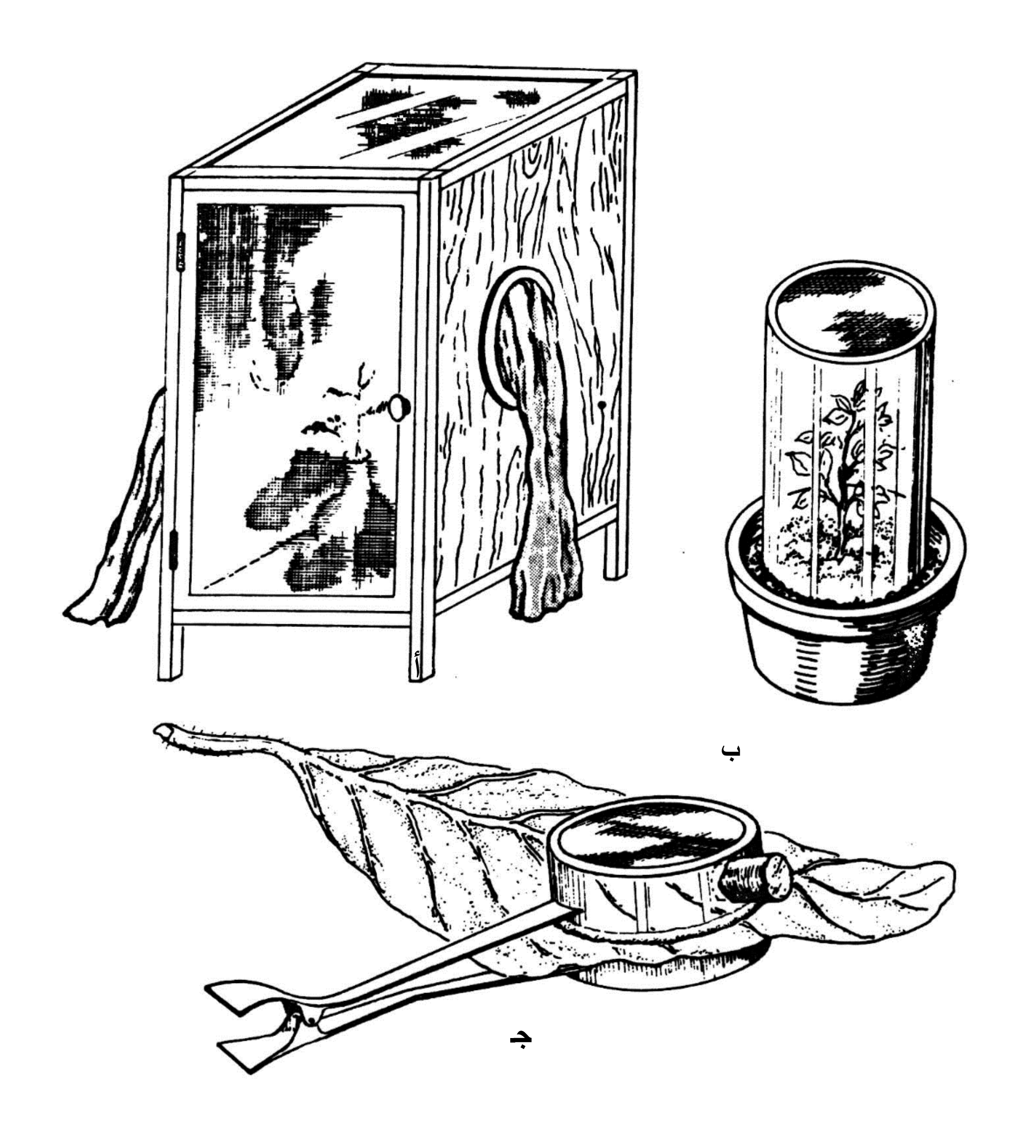
تحتاج اختبارات الانتقال الحشرى للفيروسات إلى تجهيزات وأدوات معينة لتداول الحشرات، من أهمها ما يلى:

أ – حجيرات أو أقفاص خاصة Cages:

الـ Cage هو أى حيز محدود ومجهز بطريقة تسمح بالإبقاء على كائنات حية بداخله، وتستخدم عدة أنواع منها فى دراسة الانتقال الحشرى للفيروسات، نذكر منها ما يلى:

(1) الحجيرات الخشبية Wooden Plant Cages:

تكون أبعاد الحجيرة حوالى 35×35×50 سم، وتغطى جوانبها إما بشبكة سلكية دقيقة، وإما بالقماش الحرير، مع استعمال غطاء زجاجى لكل من قمة الحجيرة، وجانبها الذى يتم تداول النباتات والحشرات من خلاله. وبالنسبة للذبابة البيضاء .. تستخدم حجيرات ذات جانبين خشبيين بكل منهما فتحة دائرية بقطر 18 سم تسمح بدخول اليد من خلالها. وتُمنع الذبابة البيضاء من الهروب من الحجيرة أثناء العمل فيها بتغطية كل من الفتحتين بأنبوبة قماشية سوداء تغلق من طرفها البعيد برباط مطاطى (شكل 8-5 أ).



شكل (8-5): أشكال الحجيرات Cages المستخدمة فى اختبارات الانتقال الحشرى للفيروسات: (أ) حجيرات خشبية، و (ب) حجيرات بلاستيكية اسطوانية، و (جـ) حجيرات الأوراق.

(2) الحجيرات البلاستيكية الأسطوانية Plastic Cylinder Whole Plant Cages:

تغطى بالشاش قمة أسطوانة بلاستيكية شفافة بقطر 32 سم، مع تثبيت قاعدتها فى إصيص ينمو فيه النبات المستخدم فى الدراسة. ويمكن أن توضع داخل الأسطوانة أوراق طازجة تغمر قواعد أعناقها فى أنابيب بها ماء (شكل 8-5 ب).

(3) حجيرات الأوراق الأسطوانية البلاستيكية **Plastic Cylinder Leaf Cages:**

يستخدم هذا النوع من الحجيرات لاختبارات الانتقال الحشرى التى يستعمل فيها عدد محدود من الحشرات. يصنع الـ cage من جزأين من أنابيب بلاستيكية يبلغ قطرها حوالى 3 سم، وطولها 1.5 سم. وتغطى الأنبوبة من أحد جانبيها بقماش من النيلون، وتنقل الحشرات إلى داخلها من خلال فتحة صغيرة تعمل فى جانب الأنبوبة وتُغْلَق بسدادة فلينية. يثبت جانبى الحجيرة (الأنبوبتان) حول الأوراق باستعمال مشبك شعر عادى، مع تثبيت نهايتى المشبك الحرتين فى جزأى الأنبوبة بتسخينهما، ثم دفعهما فى الجدار البلاستيكى (شكل 8-5 جـ).

(4) أوعية بلاستيكية أو زجاجية **Plastic or Glass Containers:**

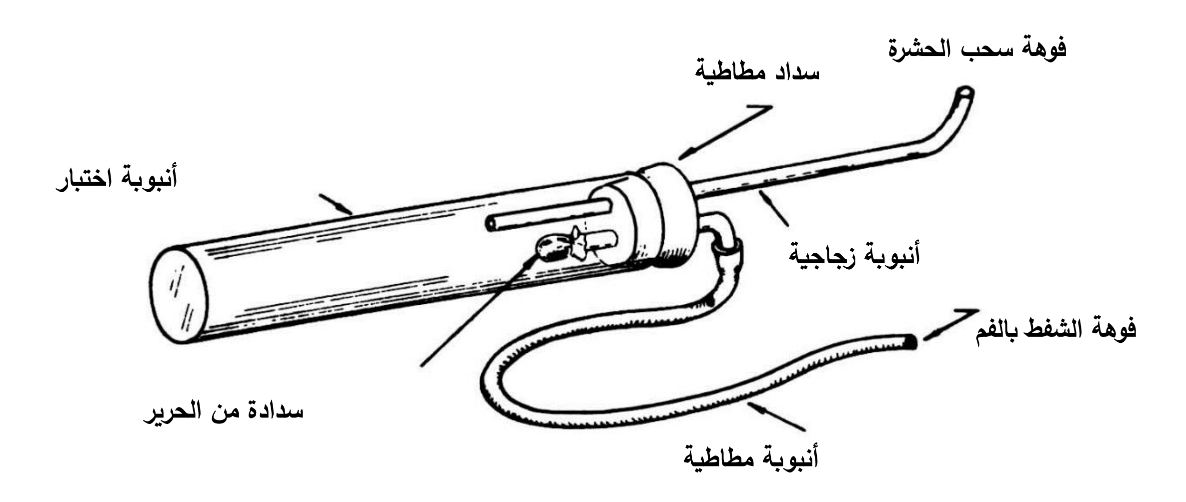
تستخدم هذه الأوعية لنقل الحشرات التى تجمع من الحقل، ويشترط فيها أن يكون غطاؤها شبكيًّا، وأن تكون واسعة بالقدر الذى يسمح بالتهوية.

ب - فرشاة رسم .. وتستخدم خاصة لتداول المن، ويلزم بلّ طرفها لكى تلتصق بها الحشرة.

جـ - جهاز شفط **Aspirator:**

يستخدم جهاز الشفط مع الحشرات النشطة الحركة؛ مثل نطاطات الأوراق، والذباب الأبيض، وهو يتكون من أنبوبة اختبار صغيرة مغلقة بسدادة مطاطية ذات فتحتين وتمر من إحداهما أنبوبة زجاجية صغيرة مستقيمة يتصل طرفها الخارجى بأنبوبة مطاطية تستعمل للشفط، بينما يغطى طرفها الداخلى بسدادة من الحرير أو النيلون تسمح بسحب الهواء بحرية، ولكنها تمنع مرور الحشرات. أما الفتحة الأخرى للسدادة المطاطية فيمر من خلالها أنبوبة زجاجية أطول قليلاً، طرفها الخارجى ملتو قليلا ليسمح بالتقاط الحشرات - عند الشفط - بكفاءة أكبر (شكل 8-6).

د - تستخدم شعرات مفردة - تربط فى أعواد خشبية صغيرة (مثل المستخدمة فى تنظيف الأسنان) - فى التقاط الحشرات الصغيرة كالمن والتربس.



شكل (6-8): جهاز سحب الحشرات بالشفط أو بالتفريغ Aspirator.

2 - جمع الحشرات من الحقل:

يمكن جمع الحشرات من الحقل بعدة طرق كما يلى:

أ - باستخدام شبكة لجمع الحشرات تمرر فوق النموات الخضرية.

ب - بالطرق على النباتات وجمع الحشرات التى تسقط منها على مفرش يوضع أسفل النباتات.

جـ - جمع حشرات مفردة باستخدام فرشاة رسم.

د - جمع عينات توجد بها الحشرات.

هـ - اصطياد الحشرات .. وتوجد أنواع مختلفة من المصائد كما يلى:

(1) المصائد اللونية .. فيمكن صيد المن والذباب الأبيض فى وعاء أصفر اللون مملوء بالماء.

(2) المصائد الضوئية .. حيث تنجذب معظم الحشرات للأشعة الزرقاء وفوق البنفسجية.

(3) مصائد الشفط .. حيث تشفط الحشرات بتيارٍ من الهواء.

(4) المصائد اللاصقة .. حيث تجذب الحشرات إلى أسطح ملونة مغطاة بمادة لاصقة.

3 - المحافظة على الحشرات وإدامتها:

إن الظروف التى تناسب نمو عائل الحشرة تكون – غالبًا – مناسبة لنمو وتكاثر الحشرة ذاتها. ولذا .. تستخدم عوائل الحشرة لهذا الغرض، وقد تستخدم أوراق النباتات فى تغذية الحشرات.

4 - المحافظة على مزارع حشرات خالية من الفيروسات:

يلزم أولاً معرفة ما إذا كانت الحشرات المجموعة من الحقل حاملة للفيرس، أم غير حاملة له، ويتم ذلك بوضعها على عوائل دالة (قابلة للإصابة بالفيرس). وبعد التأكد من خلو الحشرات من الفيرس فإنها تربى على عوائل غير قابلة للإصابة بهذا الفيرس. أما إذا وجد أن الحشرات المجموعة من الحقل حاملة للفيرس .. فإنه يلزم الانتظار حتى تضع هذه الحشرات بيضها على عوائل غير قابلة للإصابة بالفيرس، علمًا بأن ذلك لا يفيد فى حالات الفيروسات التى تنتقل خلال بيض الحشرات إلى نسلها، حيث يلزم - فى هذه الحالة - الحصول على حشرات خالية من الفيرس من البداية، أو تربيتها لأجيال قليلة على عوائل لا تصاب بالفيرس.

5 - عدوى (حقن) النباتات بالفيرس بواسطة الحشرات:

تنقل أولا حشرات خالية من الفيرس للتغذية على نبات مصاب به، وتترك عليه لحين اكتسابها الفيرس، وهى العملية التى تعرف باسم تغذية الاكتساب Acquisition Feeding وتتراوح الفترة اللازمة لذلك - حسب الفيرس - من ثوان قليلة إلى ساعات قليلة. ويلى ذلك مباشرة نقل الحشرات التى اكتسبت الفيرس للتغذية على النبات السليم الذى يراد نقل الفيرس إليه، وهى العملية التى تعرف باسم تغذية الانتقال Transmission Feeding،

وتغذية الحقن **Inoculation Feeding**. وبينما نجد أن بعض الحشرات يمكنها نقل الفيرس إلى النبات السليم فى الحال (أى بعد اكتسابها الفيرس مباشرة)، نجد أن بعضها الآخر لا يمكنها نقل الفيرس إلا بعد فترة كمون **Latent Period**، تتراوح من ساعات قليلة إلى عدة أسابيع. ويمكن تحديد هذه الفترة بنقل الحشرات الحاملة للفيرس للتغذية على النباتات السليمة على فترات منتظمة بعد اكتسابها للفيرس.

وبينما لا يمكن لبعض الحشرات - كالمن الذى يحمل الفيرس على القليم **Stylet** - أن تحتفظ بقدرتها على نقل الفيرس لأكثر من نصف ساعة .. فإن حشرات أخرى - كمعظم نطاطات الأوراق وبعض أنواع المن التى تحمل الفيرس فى جهازها الهضمى - تحتفظ بقدرتها على نقل الفيرس طوال حياتها.

كذلك يمكن لأنواع المن التى تحمل الفيرس فى جهازها الدورى **haemolymph** أن تنقل الفيرس طوال حياتها بعد انسلاخها.

وبعد فترة التغذية اللازمة لنقل الفيرس .. يتم - عادة - التخلص من الحشرات بالرش بالمبيدات، أو بالتبخير، ثم تلاحظ النباتات المحقونة - لمدة 1-3 أشهر - لحين ظهور الأعراض عليها.

6 - نباتات وحشرات المقارنة:

للتأكد من أن مجرد تغذية الحشرات على النباتات لا تُحدث أعراضًا شبيهة بأعراض الإصابة الفيروسية .. يتم نقل حشرات خالية من الفيرس للتغذية على نباتات سليمة، ثم تلاحظ الأضرار التى تحدثها التغذية. ويجب التأكد من أن الحشرات التى تنقل من الحقل تكون خالية من الفيرس. كذلك يجب الاحتفاظ بنباتات غير معدية بالفيرس فى نفس الصوبة لملاحظة الانتشار غير المتحكم فيه للفيرس، وللتأكد من أن النباتات المختبرة لم تكن حاملة للفيرس قبل عدواها به.

ثانيًا: الانتقال بواسطة المن Aphid Transmission

يعرف أكثر من 190 نوعًا من المن بقدرتها على نقل حوالى 290 نوعًا من الفيروسات إلى النباتات، ومن أهم هذه الأنواع ما يلى:

Rophalosiphum sp.	Macrosiphum sp.	Aphis sp.
Toxoptera sp.	Myzus sp.	Brevicoryne sp.

وتعد الأنواع المختلفة من المن مسئولة عن نقل حوالى 66% من الفيروسات التى تنقلها مفصليات الأرجل، ويحدث معظمها أعراض الموزايك، إلا أن بعضها يحدث أعراض الاصفرار أيضًا.

وجدير بالذكر أن الفيروسات التى ينقلها المن نادرًا ما تنقل خلال بيض الحشرة (transovarially)، ولذا .. فإن حشرات المن الحديثة الفقس تكون – دائمًا تقريبًا خالية من الفيرس.

وتقسم الفيروسات التى ينقلها المن إلى ثلاث مجاميع: غير مثابرة (غير متبقية) non- persistent (أى لا تمر فى الدروة الدموية للحشرة non- circulative)، وشبه مثابرة semipersistent، ومثابرة (متبقية) persistent (أو circulative).

وبينما تقع معظم الفيروسات التى ينقلها المن فى المجموعة الأولى، نجد أن بعضها لا يدخل ضمن أى من هذه المجاميع، حيث تكتسب الفيرس بعد فترتى اكتساب؛ أولاهما قصيرة، والأخرى طويلة، ولا تكون قادرة على نقل الفيرس بينهما، ويعرف ذلك باسم ثنائية خاصية الانتقال bimodal-transmission.

1 - الفيروسات غير المثابرة (أو غير المتبقية) Non-Persistent Viruses:

تعرف هذه المجموعة من الفيروسات أيضا باسم المحمولة على القليم Stylet- borne، وفيها تكتسب الحشرة الفيرس أثناء تغذيتها بمجرد ملامسة أجزاء فمها لخلايا نباتية مصابة. يحمل الفيرس على قليم الحشرة، ولا يصل إلى جهازها الهضمى، وتحتفظ به الحشرة لمدة تقل عن ساعة.

يكون اكتساب الحشرة للفيرس خلال فترة تتراوح من ثوانٍ قليلة إلى دقائق معدودة. وخلال ذلك الوقت لا يخترق قليم المن لأبعد من طبقة البشرة، وحينما يصل الاختراق لأنسجة أعمق مثل الميزوفيل أو النسيج الوعائى فإن قدرة الحشرة على نقل الفيرس تنخفض بشدة. ويؤدى سلوك تغذية الحشرة والمتمثل فى اختراقها لعديد من خلايا البشرة لفترات قصيرة - والذى يعتقد أنه يكون بهدف أخذ عينات من العصير الخلوى للتعرف على أفضلها - يؤدى ذلك إلى زيادة معدل انتشار الفيروسات. كذلك تؤدى إطالة فترة الاكتساب إلى أيام قليلة إلى إضعاف فاعلية الحشرة فى نقل الفيرس إلى النباتات السليمة بعد ذلك. ويمكن زيادة فترة تغذية الحشرة بتجويعها قبل السماح لها بالتغذية على النبات المصاب بالفيرس. ولا توجد فى هذه المجموعة الفيروسية فترة كمون؛ حيث يمكن للحشرة نقل الفيرس إلى النبات السليم بمجرد تغذيتها عليه. هذا .. وتبدأ أفراد المن فى فقد قدرتها على نقل الفيرس الذى اكتسبته بعد انتهاء فترة الاكتساب مباشرة، ويعتمد معدل فقد تلك القدرة على عديد من العوامل، منها درجة الحرارة، ولكنها تفقد القدرة على نقل الفيرس كلية فى خلال دقائق معدودة (عن Hull 2002).

وتتميز الفيروسات غير المثابرة بأنها تنقل كذلك بواسطة العصير الخلوى، وبأن لها مدى واسعا من العوائل.

ومن أمثلة الفيروسات غير المتبقية التى تنقل بواسطة المن ما يلى:

فيرس موزايك الفاصوليا العادى	Bean common mosaic virus
فيرس موزايك الفاصوليا الأصفر	Bean yellow mosaic virus
فيرس موزايك اللوبيا الذى ينتقل بالمن	Cowpea aphid- borne mosaic virus
فيرس موزايك الخيار	Cucumber mosaic virus
فيرس موزايك الخس	Lettuce mosaic virus
فيرس تقزم البصل الأصفر	Onion yellow dwarf virus
فيرس تبقع الباباظ الحلقى	Papaya ringspot virus
فيرس تبرقش الفول السودانى	Peanut mottle virus
فيرس تبرقش الفلفل	Pepper mottle virus
فيرس Y البطاطس	Potato virus Y
فيرس موزايك فول الصويا	Soybean mosaic virus
فيرس موزايك القصب	Sugarcane mosaic virus
فيرس موزايك اللفت	Turnip mosaic virus
فيرس موزايك البطيخ	Watermelon mosaic virus

2 - الفيروسات شبه المثابرة (أو شبه المتبقية) Semipersistent Viruses:

تصل هذه الفيروسات إلى القناة الهضمية للحشرة، وتكون فترة تغذيتها التى تلزم لاكتساب الفيرس خلالها أطول قليلاً مما فى مجموعة الفيروسات غير المثابرة، حيث تتراوح من عدة دقائق إلى ساعة واحدة أو ساعتين، غير أن قدرة الحشرة على نقل الفيرس تتحسن بزيادة فترة تغذية الإكتساب.

وكما فى الفيروسات غير المثابرة .. فإن هذه الفيروسات لا تمر - هى الأخرى - بفترة كمون فى الحشرات الناقلة لها، حيث يمكنها نقل الفيرس للنباتات السليمة بمجرد اكتسابها له. وعلى خلاف الفيروسات غير المثابرة .. فإن الفترة التى تلزم الحشرة لنقل الفيرس Inoculation Feeding فى هذه المجموعة تكون أطول؛ حيث تتراوح من عدة دقائق إلى عدة ساعات، كما أن الحشرات تحتفظ بالفيرس لفترة أطول؛ حيث تتراوح من 12-24 ساعة، وتصل - أحيانا - إلى عدة أيام. ولا تنتقل هذه الفيروسات عن طريق العصير الخلوى (ميكانيكا) إلا بصعوبة بالغة.

إن أهم الفيروسات شبه المتبقية تنتمى لكل من الـ caulimoviruses، والـ closteroviruses. وبينما يمكن أن تتواجد الـ caulimoviruses فى معظم أنواع الخلايا بالنباتات المصابة، ويتضمن انتقالها مكون مساعد helper component دُرِسَ باستفاضة، فإن الـ closteroviruses تتواجد أساسًا فى اللحاء (عن Hull 2002).

ومن أمثلة الفيروسات شبه المثابرة ما يلى:

فيرس اصفرار البنجر	Beet Yellows Virus
فيرس ترستيزا الحمضيات	Citrus Tristeza Virus
فيرس اصفرار البرسيم	Clover Yellows Virus

3 - الفيروسات المثابرة (الدائمة) Persistent Viruses:

تعرف هذه المجموعة من الفيروسات أيضا باسم Circulative Viruses؛ نظرا لأنها تصل إلى الجهاز الدورى، كما توجد فى الجهاز الهضمى للحشرة، وفى غددها اللعابية.

تتراوح فترة تغذية الاكتساب فى هذه المجموعة من 30 دقيقة إلى عدة ساعات، وتلزم لها فترة كمون قبل أن تصبح الحشرة - التى اكتسبت الفيرس - قادرة على نقله إلى نبات سليم.

وتتوقف كفاءة الحشرة على نقل الفيرس على أعداد الفيرس جزيئات التى اكتسبتها أثناء تغذيتها على النبات المصاب، ولكنها - أى الحشرة الحاملة للفيرس - لا يمكنها نقل الفيرس إلى النبات السليم إلا بعد ساعات قليلة من التغذية عليه. وليس لتصويم الحشرات عن الغذاء - فى هذه المجموعة - أى تأثير فى نقلها للفيرس.

هذا .. وتحتفظ الحشرات الناقلة للفيروسات المثابرة بالفيرس فى أجسامها طوال حياتها بما فى ذلك مراحل انسلاخها. ويمكن لهذه الفيروسات – غالبًا – التكاثر فى الحشرات الناقلة لها، ولكن توجد شواذ لهذه القاعدة؛ مثل فيرس تقزم الشعير الأصفر Barley Yellow Dwarf Virus.

تتميز الفيروسات المثابرة بمحدودية عوائلها، وقد تكون متخصصة للغاية على عائل أو عوائل قليلة جدًّا. وتتميز كذلك بأنها لا تنتقل عن طريق العصير الخلوى (ميكانيكيًّا)، ولكن توجد شواذ لهذه القاعدة مثل فيرس Pea Enation Mosaic.

تتشابه معظم الفيروسات المتبقية فى إعطائها لأعراض الاصفرار والتفاف الأوراق. وسواء أتكاثر الفيرس فى ناقلة (أى كان propagative)، أم لم يتكاثر (أى كان circulative)، فإنه يتعين عليه النفاذ من خلال عائقين على الأقل، هما: جدار معى الحشرة - حيث يمر فى الجهاز الدورى - ثم جدار غددها اللعابية.

ومن أمثلة الفيروسات المثابرة (المتبقية) ما يلى:

فيرس اصفرار وتقزم الشعير	**Barley Yellow Dwarf Virus**
فيرس تبرقش الجزر	**Carrot Mottle Virus**
فيرس اصفرار الخس المتحلل	**Lettuce Necrotic Yellows Virus**
فيرس موزايك الذرة	**Maize Mosaic Virus**
فيرس موزايك وإينشَن البسلة	**Pea Enation Mosaic Virus**
فيرس التفاف أوراق البطاطس	**Potato Leafroll Virus**
فيرس اصفرار وتقزم البطاطس	**Potato Yellow Dwarf Virus**

4 - الفيروسات الثنائية الانتقال Bimodally Transmitted Viruses:

يمكن لبعض الفيروسات أن تكون متبقية أو شبه متبقية لدى انتقالها بنفس النوع من المن، وهى التى يطلق عليها اسم الفيروسات ثنائية خاصية الانتقال الحشرى bimodal transmission، ولكن بعض الباحثين يرى أن ذلك مردة إلى عوامل أخرى ليست من خصائص الفيرس ذاته، كأن تحدث تفاعلات بين الفيرس والحشرة.

ومن أمثلة هذه الفيروسات، ما يلى:

فيرس ذبول الفول الرومى	**Broadbean Wilt Virus**
فيرس موزايك القنبيط	**Cauliflower Mosaic Virus**
فيرس موزايك الداليا	**Dahlia Mosaic Virus**
فيرس موزايك الفول السودانى	**Groundnut Mosaic Virus**
فيرس موزايك البسلة الذى ينتقل بالبذور	**Pea Seedborne Mosaic Virus**
فيرس تخطيط البسلة	**Pea Streak Virus**
فيرس A البطاطا	**Sweepotato Virus A**

ويبين جدول (8-7) خصائص الانتقال الحشرى (بالمن وغيره من الحشرات) لكل من الفيروسات المتبقية وغير المتبقية.

ثالثًا: الانتقال بواسطة الذبابة البيضاء Whitefly Transmission

إن من أهم أعراض الإصابة بالفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء: الاصفرار، وتجعد الأوراق، وبعض الموزايك، وتوجد هذه الفيروسات – غالبا – فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية.

تتميز هذه الفيروسات بأنها مثابرة غالبًا، إلا أن لهذه القاعدة شواذ؛ مثل فيرس اصفرار عروق الخيار Cucumber Vein Yellowing Virus. وتصل الفيروسات التى

جدول (8-7) صفحة عرضية

جدول (8-7): العلاقات بين الفيروسات ونواقلها وخصائص عملية النقل الفيروسى (عن Hull 2002).

الموقع		فترة الاكتساب		الانتقال للجيل	تواجد الفيرس بالجهاز	فترة	تكاثر الفيرس	الانتقـــــال من
بالناقل	نوعية الانتقال	(لأقصى قدر)	فترة البقاء	التالى للناقل	الليمفاوى للناقل	الكمون	فى الناقل	خلال البويضات
خارجيًا	غير متبقية/	ثوان إلى دقائق	دقائق	لا يحدث	لا يتواجد	لا توجد	لا يتكاثر	لا يحدث
	يحمل على القليم							
	شبه متبقية/	دقائق إلى ساعات	ساعات	لا يحدث	لا يتواجد	لا توجد	لا يتكاثر	لا يحدث
	يحمل فى المعى							
	الأول							
داخليًّا	متبقية/يتحرك	ساعات إلى أيام	أيام إلى أسابيع	يحدث	يتواجد	ساعات	لا يتكاثر	لا يحدث
	فى الجهاز الدورى					إلى أيام		
	متبقية/	ساعات إلى أيام	أسابيع إلى شهور	يحدث	يتواجد	أسابيع	يتكاثر	يحدث غالبًا
	يتكاثر بالناقل							

تنقلها الذبابة البيضاء إلى الدورة الدموية للحشرة. وتتراوح فترة تغذية الاكتساب اللازمة فى معظم هذه الفيروسات من 24-48 ساعة، ويمر الفيرس بفترة كمون فى جسم الحشرة تتراوح من 4-20 ساعة، وبعدها تصبح الحشرة قادرة على نقل الفيرس، وتحتفظ بتلك الخاصية لفترة تتراوح من أيام قليلة إلى 35 يومًا.

هذا .. ويمكن ليرقات الذبابة البيضاء اكتساب الفيرس، ويظل الفيرس فى جسم الحشرة خلال جميع مراحل تطورها إلى أن تصبح حشرة كاملة، حيث تكون قادرة على نقل الفيرس إلى النباتات السليمة بمجرد بدء نشاطها فى التغذية. ولكن لا توجد أدلة على انتقال الفيرس إلى نسل الحشرات الحاملة له من خلال بيضها.

تتغذى حشرة الذبابة البيضاء على نسيج اللحاء، وتفضل التغذية على الأنسجة الحديثة، وعلى السطح السفلى للأوراق. وتحمل بواسطة الرياح، ولذا .. فإنها يمكن أن تساعد على نشر الفيرس لمسافات بعيدة.

وبصورة عامة .. فإن الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء لا تنتقل ميكانيكيا، ولكن لهذه القاعدة شواذ؛ مثل فيرس موزايك الفاصوليا الذهبى **Bean Golden Mosaic Virus**، وفيرس موزايك الطماطم الأصفر الذهبى **Tomato Golden Yellow Mosaic Virus**.

ومن أمثلة الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء (أنواع مختلفة من الذباب الأبيض) ما يأتى:

فيرس تغضن الفاصوليا	Bean Crumpling Virus
فيرس موزايك الفاصوليا الذهبى	Bean Golden Mosaic Virus
فيرس موزايك اليقطين	Bottle Gourd Mosaic Virus
فيرس موزايك الكاسافا	Cassava Mosaic Virus
فيرس تجعد أوراق الفلفل الحار	Chili Leafcurl Virus
فيرس تجعد أوراق القطن	Cotton Leafcurl Virus
فيرس اصفرار عروق الخيار	Cucmber Vein Yellowing Virus
فيرس موزايك فاصوليا المنج الأصفر	Mungbean Yellow Mosaic Virus
فيرس بى البطاطا	Sweetpotato Virus B
فيرس تبرقش البطاطا المعتدل	Sweetpotato Mild Mottle Virus
فيرس تقزم البطاطا	Sweetpotato Stunt Virus
فيرس شفافية عروق البطاطا	Sweetpotato Vein Clearing Virus
فيرس تجعد أوراق التبغ	Tobacco Leafcurl Virus
فيرس موزايك الطماطم الذهبى	Tomato Golden Mosaic Virus
فيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم	Tomato Yellow Leafcurl Virus

فيرس موزايك الطماطم الأصفر	Tomato Yellow Mosaic Virus
فيرس تقزم الطماطم الأصفر	Tomato Yellow Dwavf Virus

رابعًا: الانتقال بواسطة نطاطات الأوراق Leafhoppers ونطاطات النباتات Planthoppers

يُعرف حوالى 15000 نوع من نطاطات الأوراق تتوزع على 2000 جنس، لكن لم تثبت القدرة على نقل الفيروسات النباتية سوى فى 49 نوع فقط منها، تتوزع على 21 جنسًا.

أما نطاطات النباتات فلا ينقل الفيروسات النباتية منها سوى أنواع من العائلة Delphacidae، وهى لا تتغذى إلاّ على وحيدات الفلقة، وخاصة أنواع العائلة Poaceae، حيث تنقل فيروسات خطيرة لكل من الأرز، والقمح، والذرة.

ومن أهم أنواع النطاطات بنوعيها التى تنقل فيروسات إلى النباتات، ما يلى:

Empoasca sp.	Agallia sp.
Eutettix sp.	Austroagallia sp.
Javesella sp.	Cicadulina sp.
Macrosteles sp.	Cicadulifer sp.
Nephotettix sp.	Dalbulus sp.

وتتخصص النطاطات فى نقل الفيروسات التى تتواجد فى نسيج اللحاء، وهو النسيج الذى تحصل منه على غذائها. وتعد هذه المجموعة من الفيروسات المثابرة (الدائمة)، وتتراوح فترة تغذية الاكتساب للنطاطات الناقلة لها من 30 دقيقة إلى عدة ساعات. ولا يمكن للحشرات التى اكتسبت الفيرس أن تنقله للنباتات السليمة إلا بعد مرور فترة كمون، ثم التغذية على النبات السليم لعدة ساعات.

تصل فيروسات هذه المجموعة للجهازين الهضمى والدورى للنطاطات، وتبقى فيها طوال حياتها. وتتكاثر هذه الفيروسات فى جسم الحشرة، ولكن توجد استثناءات لهذه القاعدة، كما فى فيرس تجعد قمة البنجر Beet Curly Top Virus. وتنتقل بعض هذه الفيروسات عن طريق بيض الحشرة.

وتتميز فيروسات هذه المجموعة بأنها متخصصة إلى حد كبير فيما يتعلق بنوع النطاطات الذى ينقلها، وأن لكل فيرس منها مدى محدودًا من العوائل. وتحدث هذه الفيروسات غالبا أعراض الاصفرار، أو أعراض مكنسة الساحر witche's broom فى النباتات التى تصيبها، وهى لا تنتقل بواسطة العصير الخلوى باستثناء فيرس تقزم البطاطس الأصفر Potato Yellow Dwarf Virus.

ومن الفيروسات التى تنقلها نطاطات الأوراق ما يلى:

فيرس تجعد أوراق البنجر	Beet Curly Top Virus
فيرس تخطيط الذرة	Maize Streak Virus
فيرس تقزم البطاطس الأصفر	Potato Yellow Dwarf Virus
فيرس تقزم الأرز	Rice Dwarf Virus
فيرس تورد فول الصويا	Soybean Rosette Virus

ومن الفيروسات التى تنقلها نطاطات النباتات ما يلى:

فيرس موزايك الذرة	Maize Mosaic Virus
فيرس تقزم الذرة الخشن	Maize Rough Dwarf Virus

خامسًا: الانتقال بواسطة الخنافس Beetle Transmission

من أهم أنواع الخنافس الناقلة للفيروسات ما يلى:

الخنافس البرغوثية	Phyllotreta spp.
خنافس المسترد	Phaedon spp.
خنافس الخيار	Acalymma sp.، و Diabrotica sp.

تبلغ فترة تغذية الاكتساب فى هذه المجموعة من الفيروسات نحو خمس دقائق فقط، تحتفظ بعدها الحشرة بقدرتها على نقل الفيرس لمدة يوم واحد على الأقل، ولكن الفترة تزيد غالبا على ذلك. يحمل الفيرس عادة فى الجهاز الدورى للحشرة.

تتميز هذه المجموعة من الفيروسات بثباتها، وبإمكان انتقالها ميكانيكيا بسهولة، كما يمكن إحداث الإصابة بواسطة السوائل التى يُحصل عليها بعد سحق الحشرات الحاملة للفيرس.

ومن أمثلة هذه الفيروسات ما يلى:

فيرس تبرقش قرون الفاصوليا	Bean Pod Mottle Virus
فيرس تبرقش الفول الرومى	Broad Bean Mottle Virus
فيرس صبغ الفول الرومى	Broad Bean Stain Virus
فيرس موزايك اللوبيا	Cowpea Mosaic Virus
فيرس موزايك الباذنجان	Eggplant Mosaic Virus
فيرس موزايك البامية	Okra Mosaic Virus
فيرس موازيك الفجل	Radish Mosaic Virus
فيرس تبرقش الأرز الأصفر	Rice Yellow Mottle Virus

فيرس موازيك الفاصوليا الجنوبى	Southern Bean Mosaic Virus
فيرس موزايك الكوسة	Squash Mosaic Virus
فيرس موزايك اللفت الأصفر	Turnip Yellow Mosaic

سادسًا: الانتقال بواسطة الخنقاء المُغْبَرَّة

إن من أهم الخنافس المغبرة Mealy-bugs التى تنقل الفيروسات ما يلى:

Planococcus sp.

Pseudococcus sp.

Dysmicoccus sp.

تُخْدَم الخنافس المغبرة بواسطة النمل؛ فإذا ما كوفح النمل .. فإن الخنافس تكافح تلقائيا. وتتغذى هذه الخنافس بامتصاص العصارة النباتية من نسيج اللحاء مباشرة.

تعتبر الفيروسات التى تنقلها هذه الخنافس شبه مثابرة، وقد تحمل على قليم الحشرة. وتزيد قدرة الحشرة على نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب إلى 24 ساعة، ولكن الحد الأدنى لفترة تغذية العدوى (الحقن) Inoculation Feeding هو 15 دقيقة. هذا .. وليس لتصويم الحشرة عن الغذاء أى تأثير على كفاءتها فى اكتساب الفيرس أو نقله، كما لا توجد فترة كمون. ويمكن للفيروسات التى تنقلها هذه الخنافس أن تنتقل ميكانيكيا كذلك.

ومن أهم الأمثلة على الفيروسات التى تنقلها الخنافس المغبرة ما يلى:

فيرس الأناناس الكامن	**Pineapple Latent Virus**
فيرس تورم نموات الكاكاو Cacao Swollen Shoot Virus، وهو لا ينتقل إلا بواسطة إناث الحشرة.	

سابعًا: الانتقال بواسطة حشرة الـ Psyllid

إن أهم الـ Psyllids التى تنقل الفيروسات النباتية تنتمى إلى الأجناس التالية:

Trioza sp.

Diaphorina sp.

Psylla sp.

يحمل الفيرس فى الجهاز الدورى للحشرة.

ومن الفيروسات التى تنتقل بها ما يلى:

فيرس تبرقش ورقة البسلة الأحمر	**Pea Red Leaf Mottle Virus**
فيرس تجعد أوراق الكمثرى	**Pear Leafcurl Virus**

ثامنًا: الفيروسات التى ينقلها التربس Thrips Transmission

يُعرف حوالى 5000 نوع من التربس، منها 10 أنواع فقط تعد قادرة على نقل الفيروسات النباتية، وجميعها تنتمى إلى العائلة Thripidae (عن Hull 2002).

وتنتمى أهم أنواع التربس التى تنقل الفيروسات إلى الجنسين الآتيين:

Thrips sp.

Prankliniella sp.

ينقل التربس فيرس ذبول الطماطم المتبقع Tomato Spotted Wilt Virus حيث لا يُكتسب الفيرس إلا بواسطة اليرقة، ولا ينتقل للنباتات السليمة إلاّ بواسطة الحشرة الكاملة، وهو من الفيروسات المثابرة persistent غير الثابتة unstable، وينتقل أيضًا ميكانيكيا. وللفيرس مدى واسع من العوائل يشمل مالا يقل عن 166 نوعًا نباتيًا موزعة على 36 عائلة من ذوات الفلقة الواحدة وذوات الفلقتين (عن Green 1984، وعن Hull 2002).

تاسعًا: الانتقال بواسطة النحل

يُساعد النحل الطنّان bumble bees (Bombus terrestris) فى نقل فيرس موزايك التبغ من نبات طماطم لآخر داخل الصوبة الواحدة، وذلك عن طريق حبوب اللقاح التى يقوم بنقلها (Okada وآخرون 2000).

كذلك قام نحل العسل بنقل فيرس تبرقش أوراق البلوبرى blueberry leaf mottle virus عن طريق حبوب اللقاح المصابة فى البلوبرى (Childress & Ramsdell 1987).

الانتقال بواسطة الأكاروسات Mite Transmission

إن أهم الأكاروسات التى تنقل الفيروسات النباتية تنتمى إلى الأجناس الآتية:

Aceria sp.

Brevipalpus sp.

Eryophyes sp.

يُحمل الفيرس فى القناة الهضمية للأكاروس، ويبقى معه بعد الانسلاخ، ولكنه لا ينتقل إلى النسل من خلال البيض.

تزيد كفاءة الأكاروس فى نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب.

ومن أهم الفيروسات التى ينقلها الأكاروس ما يلى:

فيرس تبقع البن الحلقى	**Cofee Ringspot Virus**
فيرس موزايك التين	**Fig Mosaic Virus**
فيرس موزايك الخوخ	**Peach Mosaic Virus**
فيرس موزايك وتخطيط القمح	**Wheat Streak Mosaic Virus**
(عن Green 1984).	

الانتقال بواسطة الفطريات

تتخصص بعض الفطريات فى نقل فيروسات معينة إلى النباتات كما يظهر فى جدول (8-8). وللتفاصيل المتعلقة بهذا الموضوع .. يراجع Campbell (1996).

الانتقال بواسطة النيماتودا

تنتمى النيماتودا Nematodes القادرة على نقل الفيروسات النباتية إلى ثلاثة أجناس، هى: Xiphinema، و Longidorus (اللذان يوجد بهما نواقل للفيروسات الـ polyhedral من مجموعة الـ Nepovirus)، والجنس Trichodorus (الذى يوجد به نواقل للفيروسات العصوية من مجموعة الـ tobarovirus).

هذا .. ويوجد قدر كبير من التخصص من العلاقة بين الفيرس والنيماتودا، تتضمن غالبًا تعلق جزيئات الفيرس بمناطق خاصة من النسيج المبطن لمعى النيماتودا (عن Hull 2002).

جدول (8-8): الفيروسات وأشباه الفيروسات (virus-like agents) التى تنتقل إلى النباتات عن طريق الفطريات والأنواع الفطرية الناقلة لها (عن Campbell 1996).

		الفطر الناقل				
الفيرس أو الجنس الفيروسى	الاسم المختصر للفيرس	Obr	Obo	Pgr	Pbe	Sss
Tombusvirus						
Cucumber necrosis	CNV		+			
Carmoviruses						
Melon necrotic spot	MNSV		+			
Cucumber leaf spot	CLSV		+			
Cucumber soil-borne	CSBV		+			
Squash necrosis	SqNV		+			
Necroviruses						
Tobacco necrosis	TNV	+				
Chenopodium necrosis	ChNV	+				
Lisianthus necrosis	LNV	+				
Dianthovirus						
Red clover necr. Mosaic	RCNMV		+			
Satellite virus						
Tobacco necrosis	STNV	+				
Furoviruses						
Soilborne wheat mosaic	SBWMV			+		
Oat golden stripe	OGSV			+		

		+			PCV	Peanut clump
		+			IPCV	Indian peanut clump
		+			RSNV	Rice stripe necrosis
	+				BNYVV	Beet necrotic yellow vein
	+				BSBV	Beet soil-borne
+					PMTV	Potato mop-top
						Bymoviruses
		+u			BaMMV	Barley mild mosaic
		+			BaYmv	Barley yellow mosaic
		+			OMV	Oat mosaic
		+			RNMV	Rice necrosis mosaic
		+			WSSMV	Wheat spindle streak
						Others
				+	LBVV	Lettuce big vein
				+	TSV	Tobacco stunt
				+	FLNA	Freesia leaf necrosis agent
				+	LRNA	Lettuce ring necrosis agent
				+	PYVA	Pepper yellow vein agent

Obr= Olpidium brassicae: Obo = O. bornovanus: Pgr = Polymvxa graminis: Pbe = P. betae: Sss = Spongospora subterranea f. sp. Subterranea.

تنتقل الفيروسات التى تنقلها النيماتودا ميكانيكيا كذلك ، وهى متخصصة على عوائل معينة. ويُفقد الفيرس أثناء انسلاخ النيماتودا. وتحتفظ النيماتودا بالفيرس لمدة تتراوح من أسبوعين كما فى .Trichodorus sp، و .Longidorus sp إلى ثمانية أشهر كما فى .Xiphinema sp.

تزيد كفاءة النيماتودا فى نقل الفيرس بزيادة فترة تغذية الاكتساب إلى 48 ساعة.

ومن أهم الفيروسات التى تنقلها النيماتودا ما يلى (وكذلك جدول 8-9).

1 - ينقل الجنس .Trichodous sp ما يلى:

فيرس تلون البسلة البنى المبكر Pea Early Browning Virus.

فيرس خشخشة التبغ Tobacco Rattle Virus.

2 - ينقل الجنس .Longidorus sp ما يلى:

فيرس حلقة الطماطم السوداء Tomato Black Ring Virus.

فيرس تبقع الراسبرى الحلقى Raspberry Ringspot Virus.

3 - ينقل الجنس .Xiphinema spp ما يلى:

فيرس التفاف أوراق الكرفس Celery Leaf Roll Virus.

فيرس ورقة العنب المروحية Grape Fan leaf Virus.

فيرس موزايك وتورد الخوخ Peach Rosette Mosaic Virus.

فيرس تبقع الفراولة الحلقى الكامن Strawberry Latent Ringspot Virus.

فيرس تبقع الطماطم الحلقى Tomato Ringspot Virus.

فيرس تبقع التبغ الحلقى Tobacco Ringspot Virus (عن Green 1984).

وللتفاصيل المتعلقة بموضوع الانتقال النيماتودى للفيروسات .. يراجع Brown وآخرين (1995).

جدول (8-9): الفيروسات التى تنتقل بواسطة النيماتودا والأنواع النيماتودية الناقلة لها (عن Brown وآخرين 1995).

النيماتودا الناقلة	الفيرس المنقول	الاسم المختصر
NEPOVIRUSES		
Longidorus		
apulus	artichoke Italian latent (Italian strain)	AILV
arthensis	cherry rosette disease	CRosV
attenuatus	tomato black ring (german/English strain)	TBRV
diadecturus	peach rosette mosaic	PRMV
elpngatus	Raspberry ringspot (Scottish strain)	RRSV
	tomato black ring (Scottish strain)	TBRV
fasciatus	artichoke Italian latent (Greek strain)	AILV
macrosoma	raspberry ringspot (English strain)	RRSV
martini	mulberry ringspot	MRSV
Paralongidorus		

RRSV	raspberry ringspot (german grapevine strain)	maximus
		Xiphinema
CRLV	cherry rasp leaf	americanum
PRMV	peach rosette mosaic	(senso lato)
TRSV	tobacco ringspot	
ToRSV	tomato ringspot	
CRLV	cherry rasp leaf	americnum
TRSV	tobacco ringspot	(sensu stricto)
ToRSV	tomato ringspot	
ToRSV	tomato ringspot	bricolensis
CRLV	cherry rasp leaf	californicum
TRSV	tobacco ringspot	
ToRSV	tomato ringspot	
ArMV	arabis mosaic	diversicaudtum
SLRSV	strawberry latent ringspot	
GFLV	grapevine fanleaf	index
GFLV	grapevine fanleaf	italiae
CRLV	cherry rasp leaf	rivesi
TRSV	tobacco ringspot	
ToRSV	tomato ringspot	

		TOBRAVIRUSES
		Paratrichodoru s
PEBV	pea early-browning	anemones
TRV	tobacco rattle	
PRV	pepper ringspot	minor
TRV	tobacco rattle	(syn. christiei)
TRV	tobacco rattle	nanus
PEBV	pea early-browning	pachydermus
TRV	tobacco rattle	

الانتقال بوسائل أخرى

تنتقل بعض الفيروسات بوسائل أخرى نذكرها – هنا – باختصار، نظرا لمحدودية فائدتها بالنسبة لعملية تقييم المقاومة للأمراض. ومن هذه الوسائل ما يلى:

1 - الانتقال بواسطة البذور:

تنتقل بعض الفيروسات بالبذور، مثل: موزايك الفاصوليا العادى، وموزايك الخس. وبرغم أن نسبة الانتقال بالبذور تكون عادة منخفضة، إلا أن النباتات الناتجة من زراعة بذور مصابة تكفى عادة لنشر الفيرس فى الحقل بوسائل الانتقال الأخرى.

2 - الانتقال بأعضاء التكاثر الخضرية:

تنتقل جميع الفيروسات بطرق التكاثر الخضرى المختلفة، مثل: الدرنات، والفسائل، والجذور، والأبصال ... إلخ.

3 – الانتقال بواسطة حبوب اللقاح:

يقتصر الانتقال بواسطة حبوب اللقاح على عدد محدود جدا من الفيروسات.

هذا .. ويعطى جدول (8-10) مقارنة بين الفيروسات التى يتخصص فى نقلها كائنات Vectors مختلفة من حيث خصائص عملية الانتقال ذاتها.

جدول (8-10): خصائص انتقال بعض الفيروسات النباتية (عن Gibbs & Harrison 1976).

الفيرس	الناقل vector	أقل فترة تلزم لاكتساب الفيرس	فترة الكمون (الحد الأدنى)	فترة تغذية الحقن (الحد الأدنى)	الحد الأقصى لاحتفاظ الحشرة بالفيرس	تكاثر الفيرس فى الحشرة
Y البطاطس	Myzus	10 ثوان	لا توجد	15 ثانية	ساعتان	لا يحدث
	persicae					
اصفرار البنجر	M. persicae	5 دقائق	لا توجد	5 دقائق	3 أيام	لا يحدث
اصفرار عروق والتفاف	Hyperomyzus	ساعتان	8 أيام	أقل من ساعة	أسابيع	لايحدث
أوراق الـ Sowthistle	lactucae					
تورم نموات الكاكاو	Planococcides	ساعة	_	15 دقيقة	4 أيام	غير محتمل
	Njalensis					

تابع جدول (8-10):

الفيرس	الناقل vector	أقل فترة تلزم لاكتساب الفيرس	فترة الكمون (الحد الأدنى)	فترة تغذية الحقن (الحد الأدنى)	الحد الأقصى لاحتفاظ الحشرة بالفيرس	تكاثر الفيرس في الحشرة
تجعد واصفرار أوراق	Bemisia tabaci	30 دقيقة	21 ساعة	30 دقيقة	20 يومًا	_
الطماطم						
اصفرار عروق الخيار	B. tabaci	20 دقيقة	لا توجد	10 دقائق	6 ساعات	لا يحدث
تنجرو الأرز	Nephotettix	30 دقيقة	لا توجد	15 دقيقة	6 أيام	غير محتمل
	impicticeps					
تجعد قمة البنجر	Circulifer	دقيقة	4 ساعات	دقيقة	أسابيع	غير محتمل
	tenellus					
سرطان الجروح	Agallia	أقل من	12 يومًا	أقل من ساعة	أسابيع	يحدث
Wound Tumor	constricta	ساعة				

موزايك الكوسة	Acalymma	5 دقائق	أقل من 10	دقائق قليلة	أسابيع	--
	trivittata		ساعات			
ذبول الطماطم المتبقع	Thrips tabaci	30 دقيقة	5 أيام	5 دقائق	أسابيع	محتمل
موزايك القمح المخطط	Aceria tulipae	15 دقيقة	--	15 دقيقة	9 أيام	--
ورقة العنب المروحية	Xiphinema	15 دقيقة	--	15 دقيقة	أسابيع	لا يحدث
	index					
تحلل التبغ	Olpidium	دقيقتان	لا توجد	ساعتان	--	غير محتمل
	brassicae					
موزايك القمح	Polymyxa	أيام قليلة	--	4 ساعات	عدة أيام	محتمل
	graminis					

ولمزيد من التفاصيل عن وسائل انتقال الفيروسات النباتية .. يراجع ما يلى:

المرجع	وسيلة الانتقال
1967 Yarwood & Fulton	ميكانيكيًّا
1967 Swenson	بالحشرات
1976 Costa	بالذبابة البيضاء
1967 Raski & Hewitt	بالنيماتودا
1972 Taylor	بالنيماتودا
1967 Slykhuis، 1972	بالأكاروس
1967 Teakle، 1972	بالفطريات
1967 Bennett	بالحامول
1967 Bos	بالتطعيم
1972 Whitcomb	بالـ Auchenorrhynchous Homoptera
1972 Shepherd	بالبذور وحبوب اللقاح
1972 Watson	بالمن

طرق تقدير شدة الإصابة أو المقاومة فى اختبارات التقييم

يجب عند اختيار الطريقة المثلى لتقدير شدة الإصابة أو المقاومة للأمراض أن يكون الباحث ملمًا بأعراض المرض من كافة جوانبه، وبمدى تأثير الإصابة فى النمو النباتى، ليتسنى وضع الأسس السليمة لتقدير المرض. فمثلا .. وجد Madamba وآخرون (1965) أن إصابة العوائل غير المناسبة Uusuitablc Hosts بنيماتودا تعقد الجذور يتبعه نقص فى قوة النمو، إلا أنه قد تحدث زيادة فى قوة النمو فى أحيان أخرى.

ويحدث النقص فى قوة النمو عند استعمال تركيز عال من اللقاح **inoculum**، بينما تحدث الزيادة فى قوة النمو عند استعمال تركيز منخفض، أو متوسط منه، ويتوقف ذلك على المحصول المَعْدِى. وقد تبين أن النباتات التى تزيد فيها قوة النمو يتكون فيها عدد كبير من الجذور الجانبية، ومرد ذلك إلى أنه - فى حالة التركيز المنخفض للعدوى – تصيب يرقات النيماتودا الجذور الأولى للنبات؛ الأمر الذى يؤدى إلى تكوين جذور جديدة كثيرة، فتزداد قدرة النباتات على امتصاص الماء والعناصر الغذائية، وتزيد قوة نموها تبعًا لذلك.

أما عندما يكون تركيز اللقاح مرتفعًا .. فإن جميع الجذور الأولى والتالية فى التكوين تصاب بيرقات النيماتودا؛ وبذا .. يستنفذ النبات مخزونه من المواد الغذائية فى تكوين الجذور الجديدة، مما يؤدى إلى نقص قوة نموه.

ونقدم فيما يلى عرضا لأهم الطرق المستخدمة فى تقدير شدة الإصابة، أو المقاومة للأمراض:

1 – حساب نسبة أو عدد النباتات المصابة:

يكون من السهل حساب نسبة أو عدد النباتات المصابة حينما يمكن تقسيم النباتات إلى مصابة وسليمة فقط، مثلما يحدث عندما يموت النبات كله، أو عندما تكون إصابة النباتات بنفس الدرجة.

2 – حساب شدة الإصابة على مقياس للمرض **Disease Scale**:

تقدر شدة الإصابة فى هذه الحالة بحصر عدد النباتات أو الأعضاء النباتية التى تقع فى أقسام معينة لمقياس لشدة الإصابة يتم اختياره بعناية، ثم يُحصل على رقم واحد لشدة الإصابة بالمعادلة التالية:

شدة الإصابة مجموع عدد النباتات فى كل قسم من مقياس المرض مضروبًا فى

= رقم القسم

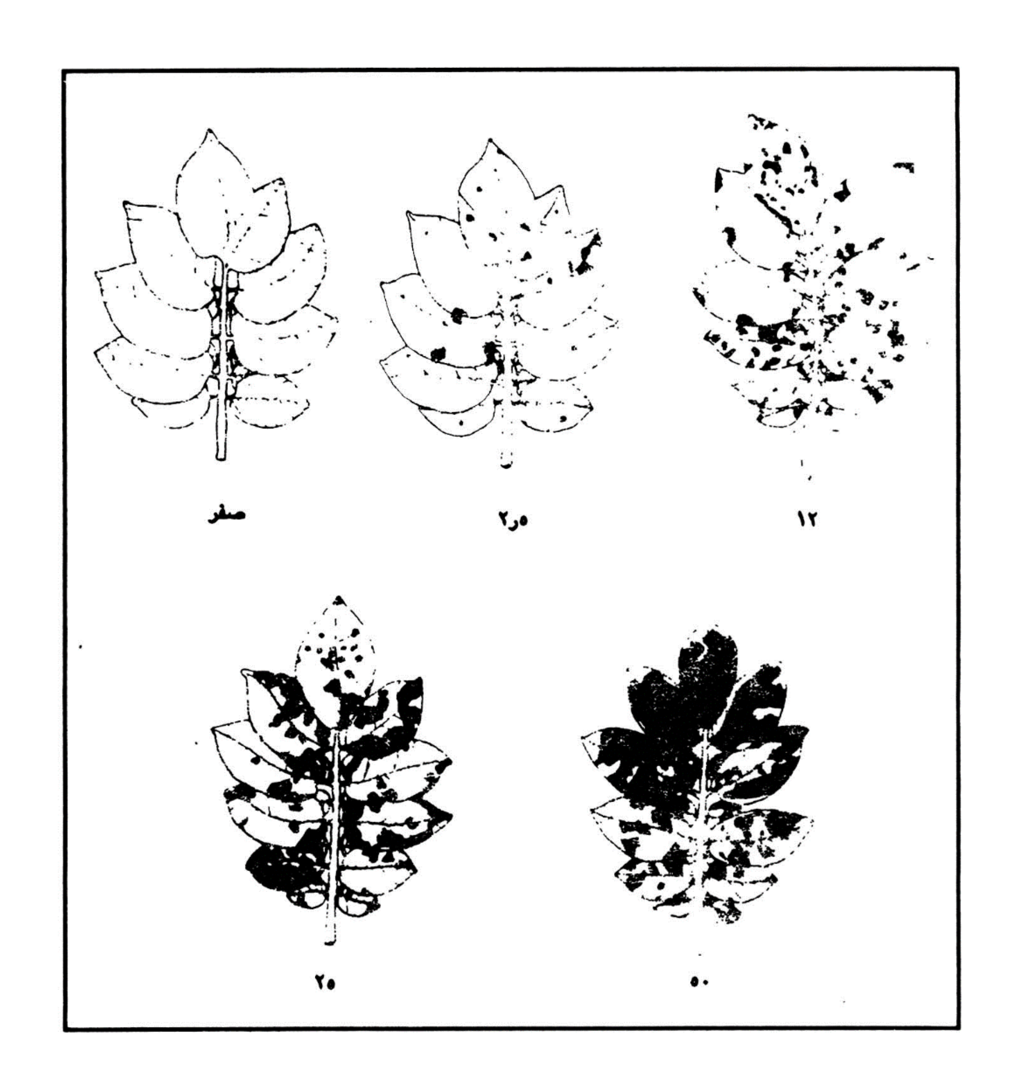
المجموع الكلى للنباتات المختبرة

ومن أمثلة المقاييس المرضية التى تستخدم فى هذا المجال ما يلى:

أ – اعتماد المقياس على توزيعات متساوية لنسبة الأعضاء أو الأنسجة النباتية المصابة مثل صفر – 10%، و 10.1 – 20% ... وهكذا إلى 90.1 – 100%، أو صفر – 25%، و 25.1 – 50%، و 50.1 – 75%، و 75.1 – 100% ... إلخ من التوزيعات المتساوية، ثم يختصر ذلك كله فى صورة أرقام عددية تمثل شدة الإصابة، فيكون المقياسان السابقان - مثلاً - من 1 إلى 10، ومن 1 إلى 4 على التوالى.

ب - أوضح Horsfall أهمية تصميم مقياس للمرض يعتمد على قدرة الإنسان على التفرقة بين الاختلافات؛ كأن تكون شدة الإصابة - كنسبة مئوية كما يلى: صفر -3، و 3-6، و 6-12، و 12-25، و 25-50، و 50 – 75، و 75-87، و 87-94، و 94-97، و 97-100%، ثم توزيع هذه الدرجات على مقياس من 1 إلى 10. وهذا المقياس يعتمد - عند تقييم النباتات - على نسبة الجزء المصاب حتى 50% إصابة، ثم على نسبة الجزء السليم بعد ذلك (شكل 8-7).

جـ - استعمال مقاييس وصفية Descriptive Scales لشدة الإصابة مثل: قليلة، ومتوسطة، وشديدة، أو أية درجات أخرى (شكل 8-8)، وتحذف أحيانا الكلمة التى تصف شدة الإصابة، ويوضع مكانها رقم أو رمز.



شكل (8-7): مقياس لشدة الإصابة بمرض الندوة المبكرة فى البطاطس يعتمد على قدرة العين على التفرقة بين الاختلافات (عن Reifschneider وآخرين 1984).

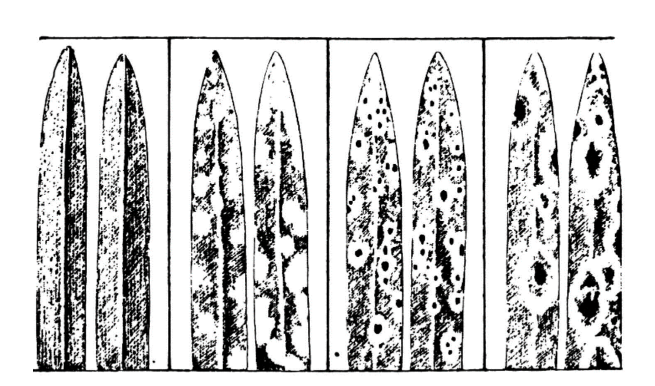
ويراعى عند استعمال المقاييس الوصفية ما يلى:

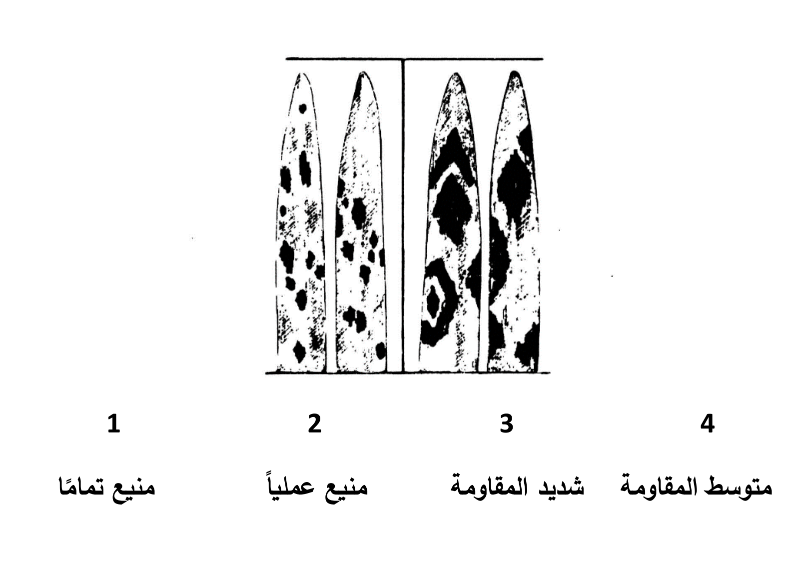
(1) أن يرافقها صورة فوتوغرافية، أو أشكال تخطيطية (شكل 8-9)، توضح محتلف درجات الإصابة.

(2) أن يمثل أكبر رقم فى المقياس أعلى درجات المقاومة؛ لأن المربى يعمل غالبًا على تحسين عدة صفات فى وقت واحد؛ الأمر الذى يتطلب توحيد المقاييس المستخدمة؛ لتكون الأرقام الأعلى دالة على الصفات الأحسن لتسهيل عملية الانتخاب.

(3) يفضل استعمال مقياس من 1-9 بدلاً من 1-3، أو 1-5 (اللذين ربما لا يتوفر بهما درجات تمثل كل حالات شدة الإصابة)، أو 1-10 (الذى لا يوجد به درجة وسطية لتمثيل الدرجة المتوسطة من الإصابة)، أو صفر-10 (لأن الصفر غير مفضل فى التحليلات الإحصائية).

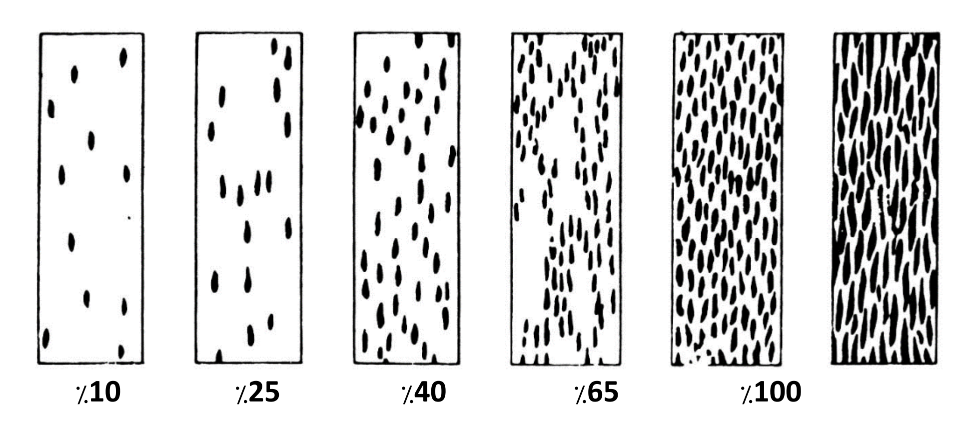
ويبين جدول (8-11) وصفًا لطرز الإصابة (الأعراض) المستخدمة فى تقسيم تفاعلات القمح مع فطر صدأ الساق على أوراق البادرات.





قابلة للإصابة

شكل (8-8): مقياس وصفى من ست درجات تمثل مستويات المقاومة لفطر **Puccinia graminis f. sp. tritici** فى القمح.



شكل (8-9): مقياس وصفى يمثل شدة الإصابة بالصدأ فى النجيليات تحت ظروف الحقل.

6 **5**

شديد القابلية للإصابة **متوسط القابلية للإصابة**

جدول (8-11): وصف لطرز الإصابة (الأعراض) المستخدمة فى تقسيم تفاعلات القمح مع فطر صدأ الساق، وذلك على أوراق البادرات (عن Mansfield وآخرين 1997).

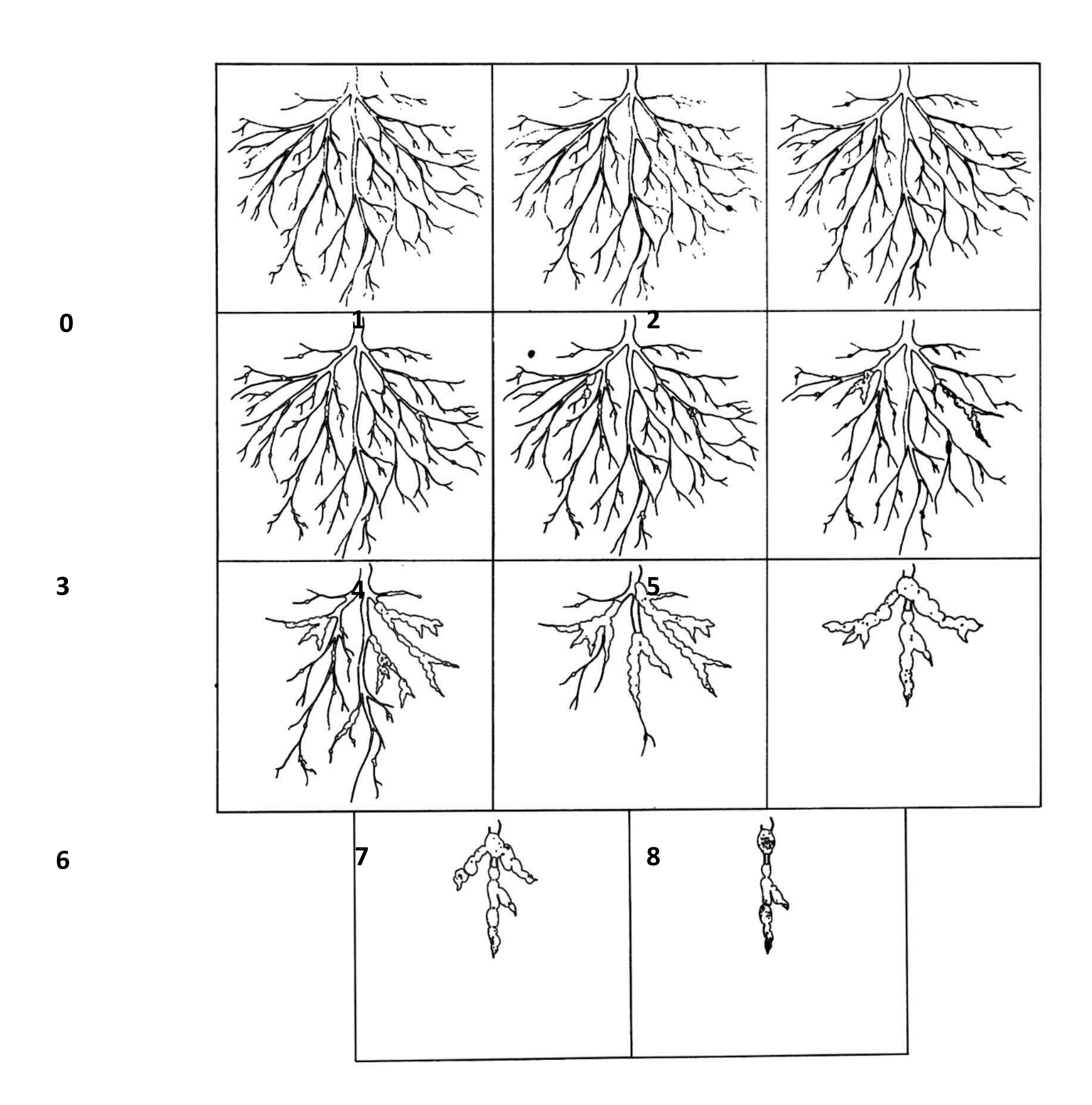
نوع التفاعل	طراز الإصابة	جين المقاومة	وصف الأعراض
مناعة	صفر	Sr5	لا توجد أى أعراض مرئية بالعين للإصابة، ولكن تظهر نقاط متحللة دقيقة عند الفحص بالعدسة المكبرة.
مقاومة عالية	صفر	Sr6	لا توجد جراثيم يوريدية، ولكن تظهر نقاط متحللة بمساحات متنوعة، تكون – عادة – صفراء مخضرة، وأحيانا متحللة.
مقاومة	1	Sr11	تتكون بثرات يوريدية صغيرة تحاط بمساحات صفراء مخضرة أو متحللة.
مقاومة متوسطة	2	Sr13	تظهر بثرات يوريدية صغيرة بمساحات متنوعة تكون – عادة – كالجزر الخضراء المحاطة بمساحة خضراء مصفرة.
قابلية متوسطة للإصابة	3		تظهر بثرات متوسطة المساحة تكون – عادة – محاطة بمساحات خضراء مصفرة.
قابلية للإصابة	4		تظهر بثرات يوريدية كبيرة مع قليل من اللون الأخضر المصفر حولها، وقد تكون ذات شكل معين.

ويستفاد من مقاييس شدة الإصابة الوصفية فى تقييم أعداد كبيرة من النباتات خلال فترة وجيزة، وخاصة بعد أن تستقر مختلف درجات شدة الإصابة فى ذهن القائم بعملية التقييم. ويمكن إسراع عملية تقييم الأعداد الكبيرة من النباتات تحت ظروف الحقل بتسجيل القراءات على جهاز تسجيل صغير أثناء المرور فى الحقل، ثم تفريغها فى الورق بعد العودة إلى المختبر.

ومن أمثلة المقاييس الوصفية التى استعملت لتقدير شدة الإصابات بنيماتودا تعقد الجذور مقياس Zeck (1971) الذى يأخذ فى الحسبان عدد الثآليل وحجمها، وتأثير الإصابة فى قوة النمو الجذرى، ومدى التبكير فى الإصابة (شكل 8–10). ويؤثر العامل الأخير فى سرعة تحلل المجموع الجذرى وموت النبات، وفى حجم الثآليل؛ حيث تكون كبيرة فى الإصابات المبكرة، وصغيرة فى الإصابات المتأخرة، إلا أنها تبدأ فى التحلل، ويموت جزء كبير من المجموع الجذرى، وتصبح صغيرة فى الأصابات المبكرة جدا، علما بأن القراءه تؤخذ فى وقت واحد، فيشاهد فى الحقل الواحد نباتات ذات نمو خضرى قوى، بينما تكون جذورها مليئة بالثآليل الضخمة، ونباتات أخرى ذات نمو خضرى ضعيف جدًّا، بينما تكون جذورها شبه متحللة وضعيفة. وتلك الأخيرة تمثل أشد حالات الإصابة، بالرغم من أن ثآليلها تكون أقل حجمًا من غيرها.

ويتدرج مقياس الإصابة، من صفر (لا توجد أية ثآليل) إلى 1-3 (يتزايد عدد الثآليل تدريجيا)، و 4-5 (يزداد حجم الثآليل)، و 6-7 (تصبح الثآليل كبيرة الحجم، ولكن يستمر وجود أجزاء غير مصابة من النمو الجذرى)، و 8-10 (تنتشر الثآليل فى كل المجموع الجذرى، مع استمرار صغره فى الحجم تدريجيا إلى أن يصل إلى أصغر حجم له فى درجة إصابة 10).

وقد استخدمت مقاييس أخرى لتقدير شدة الإصابة بالنيماتودا، من أبسطها مقياس من صفر إلى 5 (شكل 8-11)، حيث صفر - لا توجد ثآليل ظاهرة، و 1 - الثآليل قليلة جدا وصغيرة الحجم، و 2 - الثآليل متناثرة وصغيرة إلى متوسطة الحجم، و 3 – توجد ثآليل صغيرة كثيرة العدد، وأخرى متوسطة الحجم قليلة العدد، و 4 - توجد ثآليل متوسطة الحجم كثيرة العدد، وثآليل كبيرة الحجم وكثيرة أيضا، و 5 – توجد ثآليل كبيرة بكل الجذور تقريبًا.



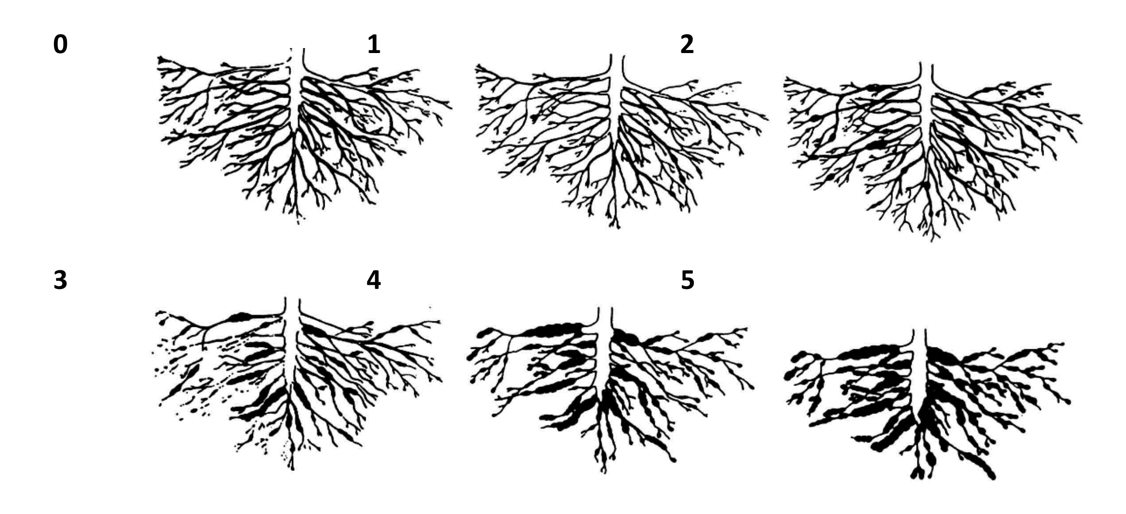
شكل (8-10): مقياس Zeck (1971) لشدة الإصابة بنيماتودا تعقد الجذور.

3 – قياس مدى قدرة المسبب المرضى على النمو والتكاثر على النباتات التى يراد تقييمها للمقاومة، مقارنة بنموه وتكاثر على صنف قياسى قابل للإصابة. فمثلا .. قسم Taylor & Sasser (1978) الأصناف والأنواع النباتية من حيث مقاومتها أو قابليتها للإصابة بنيماتودا تعقد الجذور إلى:

أ – مقاومة بدرجة عالية: وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها أقل من 2% من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة.

ب – مقاومة بدرجة متوسطة: وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها من 10 – 20% من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة.

جـ - مقاومة بدرجة بسيطة: وهى التى تبلغ درجة تكاثر النيماتودا عليها من 20 - 50% من تكاثرها على النباتات القابلة للإصابة.



شكل (8-11): مقياس لدرجة الإصابة بنيماتودا تعقد الجذور يتراوح من صفر إلى 5 (عن Roberts 2002).

وقد تمكن Omwega وآخرون (1988) من حساب عدد كتل البيض Egg Masses لنيماتودا تعقد الجذور فى جذور الفاصوليا بعد 28 يومًا من العدوى، وذلك برى النباتات يوميا خلال الأسبوع الأخير بصبغة الـ Erioglaucine التى صبغت المادة الجيلاتينية المحيطة بكتل البيض، ولذا .. فقد أمكن عدها بسهولة، ووجد الباحثون ارتباطا قويا(r = 0.85) بين عدد كتل البيض، وعدد البيض ذاته، بينما كان الارتباط ضعيفا (r = 0.45) بين دليل التآليل gall index وعدد البيض.

تقييم نوعية المقاومة، أهى رأسية، أم أفقية، أم جزئية

يمكن التعرف على نوعية المقاومة التى نتعامل معها - فيما إذا كانت رأسية أم أفقية - بتقييم درجة المقاومة فى عدد من سلالات وأصناف العائل (التراكيب الوراثية للعائل) ضد عدد من عزلات وسلالات المسبب المرضى (التراكيب الوراثية للمسبب المرضى)، مع تفسير النتائج كما يلى:

1 – عندما يمكن تفسير جميع الاختلافات غير البيئية (الاختلافات الوراثية) على أساس الاختلافات بين التراكيب الوراثية لكل من العائل والمسبب المرضى، فإن ذلك يعنى وجود مقاومة أفقية وقدرة على الإصابة pathogenicity أفقية كذلك.

2 – عندما يكون مرد جميع الاختلافات غير البيئية (الاختلافات الوراثية) – فقط – إلى التفاعل بين التراكيب الوراثية للعائل والتراكيب الوراثية للمسبب المرضى مع عدم وجود أى تأثير يذكر للتراكيب الوراثية لأى من العائل أو المسبب المرضى (عدم وجود أى تأثير للعوامل الرئيسية maineffects)، فإن ذلك يعنى وجود مقاومة رأسية وقدرة على الإصابة رأسية كذلك.

3 – عندما يظهر تأثيراً لكل من العوامل الرئيسية والتفاعل بينها، فإن ذلك يعنى وجود مقاومة رأسية، (إلاّ أن ترتيب مقاومة التراكيب الوراثية للعائل – تبعًا لشدة الأعراض المرضية – قد يعتمد على التراكيب الوراثية للمسبب المرضى)، كما قد يعنى وجود مقاومة أفقية (وهى التى يكون ترتيب المقاومة فيها مستقلاً عن التراكيب الوراثية للمسبب المرضى) (عن Agrawal 1998).

وتقاس المقاومة الرأسية نوعيًا حسب شدة الإصابة المرضية على مقياس به درجات من صفر إلى 4، حيث صفر تمثل ظهور نقاط متحللة أو مصفرة بدون أى تجرثم، و 4 تمثل ظهور بثرات جرثومية مع اصفرار، بينما تمثل الدرجات الوسطى (1، و 2، و 3) تدرجات متزايدة من البثرات الجرثومية والاصفرار.

ويمكن التعبير عن أى تدرجات أخرى داخل كل درجة من درجات هذا المقياس بالعلاقتين +، و -. وعادة تقسم الدرجات صفر، و 1، و 2 كمقاومة، والدرجتين 3، و 4 كقابلية للإصابة.

كذلك تقاس المقاومة الرأسية كميًّا حسب شدة الإصابة بحساب نسبة النسيج النباتى المتأثر بالمرض. وتتوفر رسوم تخطيطية قياسية لشدة أعراض الإصابة بالنسبة لعديد من الأمراض الهامة، وهى التى تستخدم - عادة - فى التقييم للمقاومة لتلك الأمراض.

وتستخدم بيانات شدة الإصابة المرضية المتحصل عليها خلال فترة زمنية معينة فى حساب كل من معدل زيادة المرض intection rate، والمساحة التى تقع تحت منحنى المرض area under disease curve، وذلك بهدف الحصول على تقدير كمى للمقاومة الأفقية، كما يلى:

$$\textbf{Infection rate (r)} = \frac{1}{t2 - t1}\left(\log_e \frac{X2}{1-x2} - \log_e \frac{X1}{1-x1}\right)$$

حيث إن: x1، و x2 هما نسبتا الإصابة المرضية فى الوقت t1، و t2 على التوالى.

$$\textbf{Area under disease curve} = \sum_{i-1}^{n} [(xi+1) + xi)/2]\ [ti+1 - ti]$$

حيث إن xi هى نسبة الإصابة المرضية عند الوقت ti (عن Kulkarni & Chopra 2000).

وقد أمكن الحد من الإصابة بفيرس تخطيط الذرة فى أفريقيا بتجنب الانتخاب لجينات المقاومة الرئيسية التى تتحكم فى تفاعل فرط الحساسية - وهى التى تُكسر بسهولة بظهور سلالات جديدة من الفيرس قادرة على التغلب عليها - وتوجيه الانتخاب نحو النباتات التى تظهر عليها أعراض مرضية طفيفة جدًّا، وهى الصفة التى يتحكم فيها - غالبًا - عدة جينات ذات تأثير محدود لكل منها، والتى تكون أكثر بقاء وأطول فاعلية (عن Fraser 1990).

ويمكن تقييم حالة المقاومة الجزئية partial resistance - أحيانًا - بتقييم مدى تواجد المسبب المرضى ذاته كما فى حالة البياض الدقيقى، أو بتقييم نسبة النسيج المغطى بالمسبب المرضى كما فى حالات الأصداء. وفى حالات أخرى كثيرة لا يظهر المسبب المرضى ذاته، وإنما تظهر أعراض الإصابة به على صور مختلفة، منها التغيرات اللونية فى النسيج المصاب والنسيج المجاور له، وهى التى يمكن اتخاذها دليل على مدى المقاومة الجزئية للنبات.

يستدل مما سبق بيانه أن المقاومة الجزئية يعبر عنها فى صورة نقص فى نسبة النسيج النباتى المصاب، أو نقص فى تركيز الفيرس فى النبات، مقارنة بما يكون عليه الحال فى النباتات القابلة للإصابة.

الفصل التاسع

الطرق المتبعة فى التربية لمقاومة للأمراض

الطرق العامة للتربية

لا تختلف الطرق العامة المتبعة فى التربية لمقاومة الأمراض عن تلك المتبعة فى التربية لأى هدف آخر من الأهداف التى يضعها المربى فى اعتباره لتحسين المحصول كمًّا ونوعًا، وجعله أكثر قدرة على تحمل الظروف البيئية القاسية. وللتفاصيل الخاصة بطرق التربية المتبعة فى هذا الشأن .. يراجع أحد المراجع المتخصصة مثل: Allard (1960)، و Briggs & Knowles (1967)، وحسن (2005أ، 2005ب).

طرق التربية التقليدية

نقدم - فيما يلى - عرضًا موجزًا لأهم الطرق التقليدية لتربية النبات التى تناسب التربية لمقاومة الأمراض.

انتخاب السلالة النقية Pure Line Selection

إن السلالة النقية هى نسل نبات واحد ذاتى التلقيح، وتكون جميع نباتاتها أصيلة تمامًا homozygous فى جميع عواملها الوراثية، ومتجانسة تمامًا highly homogenous فيما بينها، أى متماثلة تمامًا فى تركيبها الوراثى، وبذا .. فإن النبات المنتخب يعطى سلالة نقية صادقة التربية True Breeding يمكن أن تكون أساسًا لصنف جديد. ولا تتبع هذه الطريقة إلا مع النباتات الذاتية التلقيح.

انتخاب النسب Pedigree Selection

تعتمد طريقة انتخاب النسب على إجراء تلقيح بين صنفين تجاريين أو أكثر بهدف تجميع عدد من الصفات المرغوبة فى صنف جديد. تنتخب النباتات المرغوبة خلال الأجيال الانعزالية، ويكون الانتخاب على أساس النباتات الفردية فى البداية، ثم على أساس العائلات، فالسلالات الجيدة مع تقدم برنامج التربية، مع الاحتفاظ بسجلات للنسب فى جميع الأجيال ليمكن تتبع ومقارنة صفات النباتات المنتخبة خلال الأجيال السابقة. وتتبع هذه الطريقة مع كل من النباتات الذاتية التلقيح، والنباتات الخلطية التلقيح التى لا تتدهور بالتربية الداخلية كالقرعيات.

انتخاب التجميع Bulk Population Breeding

تتبع هذه الطريقة مع النباتات الذاتية التلقيح - خاصة البذرية منها كالحبوب والبقوليات - وتجرى فيها كافة التلقيحات اللازمة بين عدد من الأصناف التجارية أو سلالات التربية المتقدمة بغرض جمع صفات مرغوبة منها فى صنف واحد جديد. تترك النباتات المنعزلة - من الجيل الثانى إلى الجيل السادس - لتنمو متجمعة in bulk، حيث تتعرض خلال هذه الفترة للانتخاب الطبيعى فيزداد المعدل النسبى لتكاثر النباتات الأكثر قدرة على البقاء، بما فى ذلك النباتات المقاومة للأمراض المتوطنة. ومع وصول العشيرة إلى الجيل السادس تكون جميع نباتاتها أصيلة وراثيًّا؛ وبذا .. تكون النباتات المنتخبة منها صادقة التربية.

التحدر من بذرة واحدة Single Seed Descent

تجرى التلقيحات المناسبة كما فى طريقة انتخاب التجميع، وتحصد بذرة واحدة من كل نبات فى الجيل الثانى، لزراعة الجيل الثالث، ويكرر ذلك حتى الجيل السادس حيث تكون النباتات قد أصبحت أصيلة وراثيًّا. يجرى الانتخاب ابتداء من الجيل السادس، حيث تكون النباتات المنتخبة صادقة التربية. ولا تتبع هذه الطريقة إلا مع النباتات الذاتية التلقيح بطبيعتها.

الانتخاب الإجمالى Mass Selection

تتبع هذه الطريقة مع كل من النباتات الذاتية التلقيح والخلطية التلقيح بهدف تحسين الأصناف القديمة - غير المحسنة - التى تنتشر زراعتها. ويتم التحسين بإحدى وسيلتين:

1 - استبعاد النباتات غير المرغوب فيها من العشيرة قبل إزهارها، وحصاد البذور من النباتات المتبقية.

2 - تعليم النباتات المرغوب فيها وحصاد بذورها منفردة، مع أهمية تمييز تلك النباتات - فى حالة المحاصيل الخلطية التلقيح - قبل الإزهار، وحتمية إخضاعها للتلقيح الذاتى الصناعى، ثم تخلط بذور النباتات المنتخبة.

تكرر دورات التربية كما سبق إلى أن يتوقف التقدم مع الانتخاب.

التهجين الرجعى Backcross Method

تعتبر طريقة التهجين الرجعى أهم طرق تربية النباتات، خاصة فيما يتعلق بالتربية لمقاومة الأمراض، لأن المقاومة غالبًا ما يعثر عليها فى أصناف بلدية غير محسنة، أو سلالات برية من المحصول المزروع، أو فى أنواع برية قريبة منه، وليس هناك من سبيل لنقل صفة المقاومة لصنف تجارى مرغوب فيه - من مصادر كهذه - إلا باتباع طريقة التهجين الرجعى. كما تتبع هذه الطريقة عند الرغبة فى تجميع مزيد من الصفات المرغوب فيها - والتى قد توجد موزعة فى أصناف محسنة مختلفة - فى صنف ناجح، وكذلك عند إنتاج السلالات المكونة للأصناف المتعددة السلالات. تجرى نحو ستة إلى ثمانية تلقيحات رجعية إلى الصنف الذى يُراد نقل صفة المقاومة إليه - الذى يعرف بالأب الرجعى Recurrent Parent -

وبعدها يكون قد تم نقل الصفة المرغوب فيها إلى الصنف الناجح مع احتفاظه ببقية صفاته التى جعلت منه صنفًا ناجحًا. تناسب هذه الطريقة كلا من النباتات الذاتية التلقيح والخلطية التلقيح، ولكن مع ضرورة تأمين شروط خاصة فى الحالة الأخيرة.

الأصناف الهجين Hybrid Varieties

تنتج الأصناف الهجين بالتلقيح بين أبوين بينهما قدرة عالية على التآلف، وهى تُنتج فى كل من النباتات الذاتية التلقيح والخلطية التلقيح. ويمكن باتباع هذه الطريقة جمع صفات المقاومة لعدة أمراض من آباء مختلفة إن كانت تلك الصفات سائدة.

التربية بالطفرات Mutation Breeding

تتبع هذه الطريقة مع كل من النباتات الذاتية التلقيح والخلطية التلقيح والخضرية التكاثر، ولكنها أكثر مناسبة للنباتات الذاتية التلقيح، وتعد بديلاً لطريقة التهجين الرجعى بالنسبة للنباتات الخضرية التكاثر. تعامل الأصناف أو السلالات المحسنة التى يراد إحداث الطفرات المرغوبة فيها بأحد العوامل المطفرة Mutagenic Agents، سواء أكانت كيميائية مثل مركب Ethyl Methane Sulphonate، أم أشعة مؤينة مثل أشعة جاما وأشعة X، ثم تنتخب الطفرات المرغوب فيها وتقيم فى الأجيال التالية للمعاملة.

التقنيات التى يستفاد منها فى تحقيق أهداف التربية

يستفاد من الوسائل التالية فى إنجاز أهداف التربية، بما فى ذلك التربية لمقاومة الأمراض:

التضاعف Polyploidy

نادرًا ما تكون الهجن النوعية غاية فى حد ذاتها، وإنما تكون غالبًا وسيلة لنقل صفة مرغوب فيها من نوع نباتى إلى آخر، وتعد المقاومة للأمراض أهم الصفات التى تجرى لأجلها الهجن النوعية.

وللتفاصيل الخاصة بهذا الموضوع ومصادر المقاومة للأمراض فى الأنواع البرية .. يراجع Leppik (1970)، و Knott & Dovrak (1976).

مزارع الأنسجة Tissue Culture

يستفاد من مختلف أنواع مزارع الأنسجة فى تحقيق أهداف برامج التربية. وتعد مزارع البروتوبلاست من أهم الوسائل المستخدمة لنقل الصفات المرغوب فيها من نوع نباتى إلى آخر دونما حاجة إلى إجراء الهجن الجنسية، كما تستخدم مزارع الأنسجة - على نطاق واسع فى عمليات الانتخاب لمقاومة الأمراض. ونظرًا لأهمية هذا الموضوع فإننا نفرد له عنوانًا خاصًّا به فى موضع لاحق من هذا الفصل.

تقنيات الدنا والهندسة الوراثية

مع التقدم الهائل الذى حدث خلال العقدين الأخيرين فى مجال تقنيات الدنا (تقنيات تداول الحامض النووى دى إن أى) والهندسة الوراثية كان من الطبيعى أن يستفيد مربو النبات من ذلك التقدم بتطبيقه - على نطاق واسع - فى مجال التربية لمقاومة الأمراض. ونظرًا لأهمية هذا الموضوع فإننا نفرد له فصلاً خاصًّا به هو الفصل العاشر من هذا الكتاب.

وللإطلاع على الأسس المتعلقة بمزارع الأنسجة وتقنيات الدنا والهندسة الوراثية .. يمكن الرجوع إلى حسن (2007).

استخدام مزارع الأنسجة فى التربية لمقاومة الأمراض

تباينات المزارع

تعتبر مزارع الأنسجة النباتية فى الوقت الحاضر أحد المصادر الهامة للحصول على تباينات وراثية مفيدة. وقد أطلق على التباينات التى تظهر مع دورات زراعة الأنسجة اسم تباينات السلالات الجسمية somaclonal variation بواسطة Larkin & Scowcroft (1981).

قد تكون تباينات سلالات المزارع الخضرية somaclonal variations وراثية genetic أو لأسباب تتعلق بعملية الزراعة فى البيئة الصناعية epigenetic، وتعبر التغيرات الأخيرة عن ذاتها فى مرحلة النمو الخلوى، ولكنها تختفى - عادة - حين تجديد النمو النباتى منها، أو إكثارها جنسيًّا.

يُشير مصطلح تباينات المزارع somaclonal variation إلى التباينات التى تظهر فى مزارع الخلايا، وفى النباتات التى يتجدد نموها من المزارع وفى أنسالها.

هذا .. إلاّ أن نوعيات أخرى من التباينات تظهر فى مزارع خاصة للخلايا أو للأنسجة، وتتضمن ما يلى:

نوع المزرعة	كنية التباينات
البروتوبلاست protoplasts	Protoclonal
المتوك والخلايا الأمية للجاميطات anthers & microspores	Gametoclonel
الكالس callus	Calliclonal
الميرستم القمى apical meristem	Mericlonal
الأنسجة الجسمية كأنسجة الأوراق، والساق، والجذور ... إلخ.	Somaclonal

وتتعدد الأسباب فى ظهور التباينات الوراثية لمزارع الأنسجة، ولعل أبرزها مجرد تعبير التباينات التى كانت موجودة أصلاً فى الأجزاء النباتية المزروعة explants عن ذاتها، إضافة إلى ظهور التحورات الكروموسومية، وتنشيط ما يعرف باسم الـ transposable elements، وهى التى تتحكم فى ظهور بعض الصفات.

ومن أهم العوامل التى تتحكم فى معدل ظهور تباينات المزارع التركيب الوراثى للجزء النباتى المزروع explant، ونوع مزرعة الأنسجة؛ فبعض التراكيب الوراثية - وحتى بعض الأنواع النباتية - تكون أكثر عرضة لظهور هذه التباينات فيها عن غيرها؛ كما أن المزارع التى يتجدد فيها النمو (أى يحدث فيها regeneration) من نسيج كالس callus tissue تعد مصدرًا دائمًا للتباينات الوراثية الجديدة. وغالبًا ما تكون تلك التباينات ثابتة ويستمر ظهورها جيلاً بعد جيل.

ويتم تحفيز حدوث تباينات المزارع والتعرف عليها، كما يلى:

1 - زراعة الكالوس أو معلق الخلايا لعدة دورات.

2 - تجديد النمو النباتى من تلك المزارع القديمة.

3 - التقييم للصفات المرغوب فيها فى النباتات التى يتجدد نموها وفى أنسالها.

4 - اختبار التباينات المنتخبة فى الأجيال التالية.

5 - إكثار التباينات المنتخبة التى تبقى ثابتة وراثيًّا، لأجل إنتاج سلالات تربية جديدة (عن Brar & Jain 1998).

إن أكثر الاستراتيجيات نجاحًا فى عملية الانتخاب للمقاومة للأمراض فى المزارع هى التى تجرى باستعمال إما سموم الكائنات الممرضة ذاتها، وإما الراشح النقى لمزارع تلك الكائنات .. هذا مع العلم بأن كثيراً من الفطريات الاختيارية التطفل والبكتيريا الممرضة تنتج سمومًا ذات وزن جزيئى منخفض فى كل من المزارع والعائل. ويستدل من إحداث الكائن الممرض لاصفرار أو تحلل فى عائل مصاب على إنتاجه لسموم تُحدث تلك الأعراض.

استخدمت سموم المسببات المرضية فى انتخاب سلالات خلايا Cell Lines مقاومة لهذه المسببات. وقد جذبت هذه الطريقة الانتباه إليها لسهولتها، ولأن جميع الخلايا تعرض لمستوى واحد من سموم المسببات المرضية، ولكن يعيبها أن نسبة بسيطة فقط من المسببات المرضية هى التى تُنتج سمومًا، وأن قليلاً من هذه السموم هو الذى أمكن عزله وتنقيته لاستخدامه فى الانتخاب للمقاومة، كما أن بعض السموم تكون خاصة بعوائل معينة hos-specific، وتحدث بها نفس الأعراض التى تحدثها المسببات المرضية ذاتها، بينما تكون سموم أخرى ذات تأثير عام non-host-specific على عدد كبير من الأنواع النباتية، ويكون دورها فى إحداث الأعراض المرضية أقل من سابقتها.

أمكن بالاعتماد على هذه الطريقة الاستمرار فى الاستفادة من سيتوبلازم تكساس العقيم الذكر فى إنتاج هجن الذرة، علمًا بأن هذا السيتوبلازم (الذى استخدم على نطاق واسع فى إنتاج تقاوى الذرة الهجين، والذى يعرف باسم سيتوبلازم تكساس Texas cytoplasm أو T-cytoplasm) يجعل النباتات الحاملة له شديدة القابلية للإصابة بفطرين، هما: Mycospharella zez-maydis (مسبب مرض لفحة الأوراق الصفراء)، والسلالة T من Cochliobolus heterostrophus (مسبب مرض لفحة أوراق الذرة الجنوبية). الذى ينتج أعراضًا مرضية شديدة بسبب إنتاجه لسموم الـ β-polyketol. وقد أدى إحداث هذا الفطر لوباء مرضى فى عام 1970 بالولايات المتحدة الأمريكية إلى إنهاء الاعتماد على هذا المصدر للعقم الذكرى فى إنتاج الهجن التجارية (عن Wise وآخرين 1999).

ولقد أمكن عزل سلالات من الذرة، تحتوى على صفة العقم الذكرى السيتوبلازمى. مع المقاومة لسموم السلالة T من الفطر المسبب لمرض لفحة الأوراق الجنوبية؛ بواسطة تعريض مزارع أنسجة من سلالات ذرة - تحمل سيتوبلازم تكساس الخاص بالعقم الذكرى - لسموم الفطر، ووجد أن صفة المقاومة هذه تورث عن طريق السيتوبلازم، وأن النباتات المنتخبة كانت مقاومة لدى اختبارها تحت ظروف الحقل، وجدير بالذكر أن جميع أصناف الذرة التى تحتوى على سيتوبلازم تكساس العقيم الذكر Texas Male Sterile Cytoplasm تصاب بهذا الفطر بدرجة أكبر بكثير من الأصناف الأخرى. ويبدو أن سم هذا الفطر يؤثر فى الميتوكوندريا (عن Cooking & Riley 1981) ولمزيد من التفاصيل عن دور مزارع الأنسجة فى الانتخاب لمقاومة الأمراض .. يراجع Earle & Gracen (1981)، و Daub (1984).

العوامل المؤثرة فى ظهور تباينات المـــزارع

يتأثر مدى ظهور تباينات المزارع بالعوامل التالية:

1 - مدى انحراف النمو فى المزارع عن النمو الطبيعى المنتظم:

أصبح من المعروف والمسلم به أنه كلما انحرف النمو عن الصورة الطبيعية التى تتميز فيها الخلايا بشكل طبيعى، وكلما طالت فترة ذلك الانحراف كلما زادت احتمالات ظهور تباينات المزارع. وعلى سبيل المثال .. تُعد مزارع الكالس القديمة ومزارع معلقات الخلايا غير ثابتة وراثيًّا، وغالبًا ما تُظهر النباتات التى يتجدد نموها منها أو من البروتوبلاستات التى يتحصل عليها منها قدرًا كبيراً من تباينات المزارع.

هذا .. ويتباين كثيراً مستوى التضاعف فى النباتات التى يتجدد نموها من مزارع الكالس، ومزارع معلقات الخلايا، ومزارع البروتوبلاست؛ مما يدل على ضعف التحكم فى تنظيم خطوات الانقسام الميتوزى أثناء تكاثر الخلايا بالمزارع.

2 - فترة النمو المرزعى (فى البيئة الصناعية):

كثيراً ما تتراكم التباينات فى المزارع القديمة التى حوفظ عليها لفترة طويلة إلى درجة أنه عند الإكثار الدقيق يتعين التوقف عن إعادة زراعة المزارع بعد فترة معينة بغرض الحد من الـ subculturing؛ لما قد تتضمنه كثرة إعادة الزراعة من مخاطر ظهور تباينات المزارع.

وسائل الانتخاب للمقاومة فى تباينات المزارع

عند الانتخاب فى المزارع ذاتها لمقاومة الأمراض فإنه قد يمكن استخدام أى من الوسائل التالية فى عملية التقييم:

1 - المسبب المرضى ذاته:

يجب أن يؤخذ فى الاعتبار عند استخدام المسبب المرضى ذاته فى عملية التقييم صعوبة التخلص منه فى النباتات التى يتجدد نموها من المزرعة، إلا فى حالات المناعة التامة للمسبب المرضى. وقد اتبعت هذه الطريقة فى حالات قليلة تضمنت حالات مقاومة لفطريات وأخرى لفيروسات.

ويتعين عند إجراء ذلك الاختبار مراعاة التجانس التام فى عملية الحقن بالمسبب المرضى.

2 - راشح مزارع المسبب المرضى:

يحتوى راشح مزارع المسبب المرضى على "كوكتيل" من المركبات التى تضم - إلى جانب سُم الفطر المسئول عن الأعراض التى تُحدثها الإصابة بالفطر - على نواتج أيضية أخرى عديدة للفطر، وأخرى من مكونات البيئة ذاتها. وغنى عن البيان أن بعضًا من تلك المركبات التى تختلط بسُمِّ الفطر قد تكون سامة - هى الأخرى - للمزرعة التى يجرى تقييم خلاياها؛ الأمر الذى قد يؤدى إلى قتل تباينات كانت مقاومة أصلاً لسُمِّ الفطر.

3 - سُم الفطر المنقى جزئيًّا:

يكون سُم الفطر المنقى جزئيًّا أفضل فى الاستعمال كعامل انتخابى عن راشح مزرعة المسبب المرضى؛ حيث يتم تجنب بعض المشاكل التى يسببها استخدام راشح المزرعة.

4 - التحضير النقى لسُمِّ المسبب المرضى:

يفضل دائمًا استخدام التحضير النقى لسُمِّ المسبب المرضى فى عملية الانتخاب فى المزارع، وتعرف العديد من تلك السموم لعديد من الفطريات والبكتيريا (عن Remotti 1998).

وبالنسبة للانتخاب لمقاومة الفيروسات .. أمكن الحصول على سلالة خلايا تبغ مقاومة لفيرس موزايك التبغ بزراعة خلايا مصابة بالفيرس فى بيئة صناعية، حيث أمكن عزل السلالة المقاومة والتى كانت تتميز بمعدل نموها العالى على الرغم من محتواها العالى من الفيرس. وقد أمكن تجديد نمو نباتات تبغ من ذلك الكالس كانت مقاومة للفيرس، وتبين أن صفة المقاومة كانت بسيطة وسائدة (عن Taji وآخرين 2002).

أمثلة لحالات المقاومة التى أمكن التعرف عليها بالانتخاب فى تباينات المزارع

لقد أمكن - عن طريق الانتخاب فى تباينات المزارع - الحصول على مصادر كثيرة جديدة لمقاومة الأمراض فى عديد من الأنواع المحصولية، نذكر أمثلة عليها فى الجداول أرقام (9-1) إلى (9-8)، لكن تجدر الإشارة إلى أن ظهور تلك التباينات لا يقتصر على مزارع الأنسجة فقط، إذ إنها تظهر بصورة طبيعية - كذلك - فى النباتات الكاملة، حيث يمكن انتخابها كسلالات خضرية جسمية somaclones مقاومة للأمراض.

جدول (9-1): أمثلة لبعض حالات تباينات المزارع لمقاومة الأمراض التى انتقلت إلى النسل وبقيت ثابتة وراثيًّا (عن Brar & Jain 1998).

المحصول	الصفة	وسيلة الانتقال إلى النسل
التبغ	المقاومة للبكتيريا Pseudomonas syringae	جنسيًّا
الذرة	المقاومة للسلالة T من الفطر Helminthosporium maydis	أميًّا
الطماطم	المقاومة للفطر Fusarium oxysporum	جنسيًّا
	المقاومة لفيرس موزايك التبغ	جنسيًّا
القمح	المقاومة للفطر Helminthosporium sativum	جنسيًّا
الأرز	المقاومة للبكتيريا Xanthomonas oryzae	جنسيًّا
Brassica	المقاومة للفطر Phoma lingam	جنسيًّا
البرسيم الحجازى	المقاومة للفطر Fusarium oxysporum	جنسيًّا
قصب السكر	المقاومة لمرض فيجى Fiji disease	خضريًّا
	المقاومة للفطر Helminosporium sacchari	خضريًّا

البطاطس	المقاومة للفطر Alternaria solani	خضريًا
	المقاومة للفطر Phytophthora infestans	خضريًا

جدول (9-2): قائمة ببعض حالات مقاومة الأمراض التى أمكن الانتخاب لها فى مزارع الأنسجة (عن Bajaj 1990، و Jain 2001).

المحصول	الصفات المنتخبة
الطماطم	Clavibacter michiganense، و Fusarium lycopersici (وحامض الفيوزاريك)، و phytophthora infestans، و Alternaria solani، و Alternaria alternata، و Pseudomonas syringae
البطاطس	Fusarium solani
	F. oxysporum، و Phytophthora infestans، و Alternaria solani، و potato leaf roll virus
الفراولة	Phytophthora cactorum، و Rhizoctonia fragariae، و Botrytis cinerea
الشعير	Fusarium spp.
التفاح	Phytophthora cactorum
الترتكيل	Fusarium head blight

الذرة	Helminthosporium maydis
الأرز	Xanthomonas oryzae
القمح	Helminthasporium saivum، و Septoria nodorum
البرسيم الحجازى	Fusarium oxysporum f. sp. medicaginis
قصب السكر	Helminthosporium sacchari
الخوخ	Xanthomonas campestris pv. pruni، و Pseudomonas syringae
المانجو	Colletotrichum gloeosporioides، و Fusarium oxysporum f. sp. cubense وحامض الفيوزاريك

جدول (9-3): أمثلة لحالات مقاومة للأمراض انتخبت فى المزارع (عن Remotti 1989).

النبات	المسبب المرضى	العامل الانتخابى
الدُخن اللؤلؤى	Claviceps fusiformis	راشح مزرعة الفطر
البن	Colletotrichum kahawae	سُمٌّ منقى جزئيًّا
الشعير	Drechslera teres	سُمٌّ منقى جزيئًّا
الباذنجان	ميكوبلازما	المسبب المرضى ذاته
الحور	Melampsora larici	راشح مزرعة الفطر

تابع جدول (9-3):

النبات	المسبب المرضى	العامل الانتخابى
الموز	Mycosphaerella fijiensis	راشح مزرعة الفطر، وكذلك سُمٌّ منقى جزئيًّا
التفاح	Phytophthora cactorum	راشح مزرعة الفطر
الفراولة	P. cactorum	راشح مزرعة الفطر
البطاطس	P. infestans	سُمٌّ منقى جزئيًّا، وراشح مزرعة الفطر
التبغ	P. parasitica var. nicotianae	راشح مزرعة الفطر
الليمون الأضاليا	P. tracheiphila	سُمٌّ منقى جزئيًّا
Brassica	Phoma lingam	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى يتجدد نموها
الفراولة	Rhizoctonia fragariae	الإنزيمات البكتينية
الكرفس	Septoria apiicola	راشح مزرعة الفطر
فول الصويا	S. glycines	راشح مزرعة الفطر

التبغ	فيرس موزايك التبغ	الفيرس ذاته
الطماطم	فيرس موزايك التبغ	الفيرس ذاته
البرسيم الحجازى	Verticillium albo-atrum	راشح مزرعة الفطر
حشيشة الدينار	V. albo-atrum	راشح مزرعة الفطر
الباذنجان	V. dahliae	راشح مزرعة الفطر
الخوخ	Xanthomonas campestris pv. pruni	راشح مزرعة البكتيريا

جدول (9-4): أمثلة لحالات مقاومة لكل من الـ Alternaria، و الـ Helminthosporium، والـ Pseudomonas حُصل عليها من خلال مزارع الأنسجة (عن Remotti 1998).

النبات	المسبب	العامل الانتخابى
التبغ	A. alternata pv. tabaci	سُمٌّ الفطر (Al-toxin)
Brassica	A. brassicicola	سُمٌّ منقى جزئيًّا مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الجزر	A. dauci	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

تابع جدول (9-4):

النبات	المسبب	العامل الانتخابى
البطاطس	A. solani	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الطماطم	A. solani	راشح مزرعة الفطر
الذرة	H. maydis	سُمٌّ الفطر (Hm-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأرز	H. oryzae	سُمٌّ الفطر (Ho-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
قصب السكر	H. sacchari	سُمٌّ الفطر (HS-toxin) مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
القمح	H. sativum	سُمٌّ منقى جزئيًا
الشعير	H. sativum	سُمٌّ منقى جزئيًا
الشوفان	H. victorae	سُمٌّ الفطر (HV-toxin)

الكرفس	P. chichorii	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأرز	P. fuscovaginae	سُمٌّ البكتيريا (Syringotoxin)
الطماطم	P. solanacearum	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
التبغ	P. syringae pv. tabaci	سُمٌّ منقى جزئيًّا
	P. solanacearum	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الفاصوليا	P. syringae pv. phaseolicola	سُمٌّ البكتيريا (Phaseolotoxin)
القمح	P. syringae pv. syringae	سُم البكتيريا (Syringomycin)
الخوخ	P. syringae pv. syringae	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

جدول (9-5): أمثلة لحالات الانتخاب فى المزارع لمقاومة الفيوزاريم .Fusarium spp (عن Remotti 1998).

النبات	المسبب المرضى والسلالة	العامل الانتخابى
القمح	F. culmorum and F. graminearum	السموم، والـ dedeoxynivalenol
الكرفس	F. oxysporum f. sp. apii	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

تابع جدول (9-5):

النبات	المسبب المرضى والسلالة	العامل الانتخابى
	F. oxysporum f. sp. apii R2	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الأسبرجس	F. oxysporum f. sp. asparagi	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. proliferatum	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
البطاطا	F. oxysporum f. sp. batatas	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

الخيار	F. oxysporum f. sp. cucumerinum	راشح مزرعة الفطر
الموز	F. oxysporum f. sp. cubense R4	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. cubense R1	حامض الفيوزاريك
الجلاديولس	F. oxysporum f. sp. gladioli	حامض الفيوزاريك
الفراولة	F. oxysporum f. sp. fragariae	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
الطماطم	F. oxysporum f. sp. lycopersici R1	راشح مزرعة الفطر
	F. oxysporum f. sp. lycopersici R2	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. lycopersici R3	حامض الفيوزاريك مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها

البرسيم الحجازى	F. oxysporum f. sp. medicaginis	راشح مزرعة الفطر
	F. oxysporum, F. avenacearum and F. solani	راشح مزرعة الفطر، مع الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
	F. oxysporum f. sp. medicaginis	الانتخاب فى النباتات التى تجدد نموها
التبغ	F. oxysporum f. sp. nicotianae	راشح مزرعة الفطر
البطاطس	F. oxysporum f. sp. solani	راشح مزرعة الفطر
الشعير	Fusarium spp.	حامض الفيوزاريك
فول الصويا	F. solani	راشح مزرعة الفطر

جدول (9-6): أمثلة لحالات تباينات مزارع مقاومة للأمراض أمكن التعرف عليها بعد تجديد النمو النباتى من تلك المزارع (عن Remotti 1998).

النبات	المسبب المرضى والسلالة
الخس	**Bremia lactucae**
الكرفس	**Cercospora apii**
الحور	**Melampsora medusae**
البطاطس	**Phytophthora infestans**
قصب السكر	**Puccinia melanocephala**
القمح	**P. recondita**
الشعير	**Rhynchosporium secalis**
الكرفس	**Septoria apiicola**
الحور	**S. musiva**
الطرطوفة	**Scelerotinia sclerotiorum**
الدُخن اللؤلؤى	**Sclerospora graminicola**
قصب السكر	**S. sacchari**

البطاطس	**Streptomyces scabies**
قصب السكر	**Ustilago scitaminea**
البرسيم الحجازى	**Verticillium albo-atrum**
البطاطس	**V. dahliae**
قصب السكر	فيرس فيجى
البطاطس	فيرس واى البطاطس، وفيرس التفاف أوراق البطاطس، وفيرس إكس البطاطس
الطماطم	فيرس موزايك التبغ
الخس	فيرس موزايك الخس
الطماطم	**Clavibacter michiganemse**
التفاح	**Erwinia amylovora**
الخوخ	**Xanthomonas campestris pv. pruni**
الجيرانيم	**Xanthomonas campestris pv. pelargonii**
الأرز	**X. oryzae**

جدول (9-7): قائمة بأنواع محصولية مقاومة للأمراض حُصل عليها بالانتخاب فى مزارع الأنسجة (Chawla 2000).

النبات	المسبب المرضى	وسيلة الانتخاب
زيت اللفت	Phoua lingam, Alternaria brassicicola	راشح المزرعة
الأرز	Helminthosporium oryzae	السُم ذاته
	Xanthomonas oryzae	الخلايا البكتيرية
الشعير	Helminthosporium sativum	السُم ذاته
	Fusarium spp.	حامض الفيوزاريك
الذرة	Helminthosporium maydis	السُم Hm
الشوفان	Helminthosporium victoriae	الفيكتورين
القمح	Helminthosporium sativum, Fusarium graminearum	السُم ذاته
	Pseudomonas syringae	Syringomycin
قصب السكر	Helminthosporium sacchari	السُم

التبغ	Pseudomonas syringae pv. Tabaci	Methionine sulfoximine
	Alternaria alternata; P. syringae pv. tabaci	السُم
	Tobacco mosaic virus	الفيرس
	Fusarium oxysporum f. sp. nicotianae	راشح المزرعة
البطاطس	Phytophthora infestans, Fusarium oxysporum	راشح المزرعة
	Erwinia carotovora	البكتيريا
البرسيم الحجازى	F. oxysporum f. sp. medicagnis	راشح المزرعة
الطماطم	Tobacco mosaic virus	الفيرس
	Pseudomonas solanacearum	راشح المزرعة
الباذنجان	Verticillium dahliae	راشح المزرعة
	Little leaf disease	الكائن الممرض

الخوخ	Xanthomonas campestris pv. Pruni	راشح المزرعة
الأفيون	Verticillium albo-atrum	راشح المزرعة
الكرفس	Septoria apiicola	راشح المزرعة

جدول (9-8): أمثلة لحالات انتخاب لمقاومة أمراض فى مزارع الأنسجة (عن Jayasankar & Gray 2005).

المحصول		المسبب المرضى	وسيلة الانتخاب
البرسيم الحجازى	Alfalfa	Colletotrichum	راشح المزرعة
	Medicago sativa	gloeosporioides	
الأسبرجس	Asparagus	Fusarium oxysporium f.	المسبب المرضى ذاته
	Asparagus officinalis L.	sp. asparagi	
الشعير	Barley	Helminthosporium sativum	راشح مزارع منقى جزئيًا

	Avena sativa L.		
الكرنب الصينى	Chinese cabbage	Erwinia carotovora	راشح المزرعة + التعريض للأشعة فوق البنفسيجية
	Brassica campestris spp. pekinensis		
البن	Coffee	Colletotrichum kahawae	راشح مزارع منقى جزئيًا
	Coffea arabica L.		
الباذنجان	Eggplant	Vericillium dahliae	راشح المزرعة
	Solanum melangena L.		
العنب	Grapevine	Elsinoe ampelina	راشح المزرعة
	Vitis vinifera L.		
		Colletotrichum	راشح المزرعة

		gloeosporioides	
الذرة	Maize	Helminthosporium maydis	السُمّ T (أو T-toxin)
	Zea mays		
المانجو	Mango	Colletotrichum	الفطر + راشح المزرعة
	Mangifera indica	gloeosporioides	
الخوخ	Peach Prunus persica L.	Xanthomonas campestris	راشح المزرعة
		pv. pruni	
البطاطس	Potato	Phytophthora infestans	راشح المزرعة
	Solanum tuberosum		

تابع جدول (9-8):

المحصول		**المسبب المرضى**	**وسيلة الانتخاب**
الأرز	**Rice**	**Xanthomonas oryzae**	**راشح المزرعة**
	Oryza sativa		
الفراولة	**Strawberry Fragaria sp.**	**Fusarium oxysporum f. sp. fragariae**	**حامض الفيوزاريك**
قصب السكر	**Sugarcane**	**Helminthosporium**	**راشح المزرعة**
	Saccharum officinarum L.	**sacchari**	
التبغ	**Tobacco Nicotiana tabaccum**	**Pseudomonas tabaci**	**Methionine sulfoximine**

الطماطم	**Tomato**	**Fusarium oxysporum**	حامض الفيوزاريك
	Lycopersicon esculentum Mill		

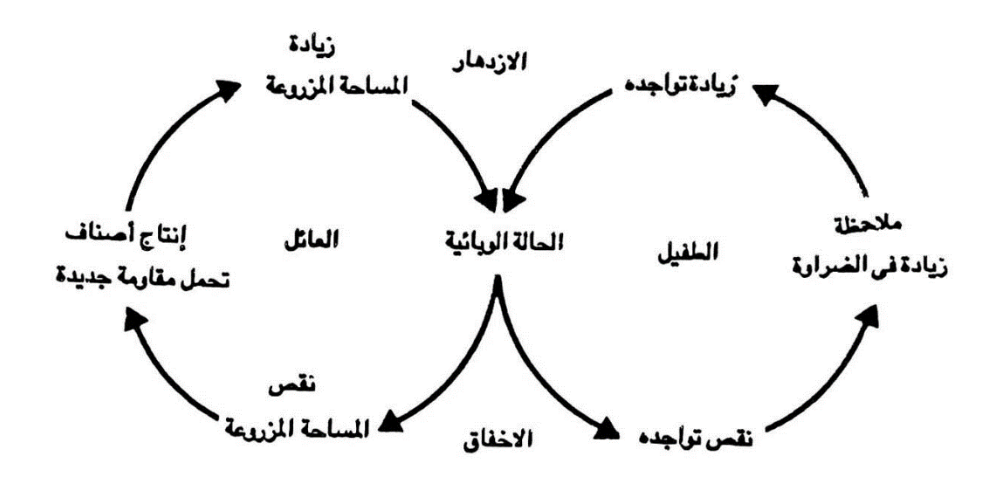
خصوصية التربية لمقاومة الأمراض

دورة الازدهار والإخفاق للأصناف المقاومة

لقد صممت طرق خاصة بالتربية لمقاومة الأمراض لمواجهة مشكلة السلالات الفسيولوجية الجديدة التى تؤدى إلى فقدان المقاومة بسرعة، فيما يعرف بدورة الازدهار والإخفاق.

تصف دورة الازدهار والإخفاق **The Bloom and Bust Cycle** - وهى التى اقترحها **Priesley** عام 1978 (عن Parry 1990) - حالة ازدهار زراعة الأصناف الجديدة التى تحمل جينات المقاومة الرأسية للأمراض بسبب الإقبال على زراعتها، ثم ما يعقب ذلك من إخفاق شديد لتلك الأصناف والتوقف عن زراعتها بسبب ظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة القادرة على إصابتها.

يوضح شكل (9-1) هذه الدورة، التى تشمل كلا من الصنف الجديد ذى المقاومة الرأسية، والسلالة الفسيولوجية الجديدة القادرة على إصابته. فما أن يتم إنتاج صنف جديد مقاوم لمرض ما إلا ويتلقفه المزارعون ويتوسعون فى زراعته، ويكون ذلك سببًا فى سرعة تدهوره، حيث يكوّن المسبب المرضى سلالة جديدة تحمل جينًا جديدًا للضراوة يقابل جين المقاومة ويجعلها قادرة على إصابة الصنف الجديد.



شكل (9-1): دورة الازدهار، والإخفاق للأصناف الجديدة المقاومة للأمراض من المحاصيل الزراعية.

ومع استمرار زراعة هذا الصنف على نطاق واسع .. يزداد تكاثر وازدهار السلالة الجديدة بصورة وبائية إلى أن تقضى على الصنف المستخدم فى الزراعة؛ مما يؤدى إلى إخفاقه، فيقل - بالتالى - الإقبال على زراعته، ويقل معه انتشار تلك السلالة (لأنها - فى غياب الصنف - تحتوى على جين زائد للضراوة يمثل عبئًا على عمليات الأيض الطبيعية لهذا المسبب المرضى؛ مما يجعل السلالة أقل قدرة على البقاء من السلالات الأخرى لنفس المسبب المرضى). ومن الطبيعى أن يعمل المربى على إدخال أصناف جديدة مقاومة فى الزراعة؛ لتمر بنفس دورة الازدهار والتدهور من جديد.

ومن المؤسف إن إنتاج الصنف الجديد المقاوم يستغرق من المربى عشر سنوات، أو أكثر ولكن ازدهاره ربما لا يدوم أكثر من سنتين. ولا يعنى ذلك أن المسبب المرضى يحتاج إلى سنتين لتربية سلالة جديدة تحمل جين الضراوة القادر على إصابة هذا الصنف .. فهذا الجين يظهر - غالبًا - خلال الموسم الأول لزراعة الصنف الجديد، ولكن يلزم - بعد ذلك - انقضاء فترة كافية لتكاثر هذه السلالة وانتشارها على نطاق واسع فى منطقة زراعة الصنف الجديد. ولعل من أبرز الأمثلة على ذلك صنف القمح الإنجليزى **Stetson** الذى انتشرت زراعته على نطاق واسع فى عام 1982؛ لمقاومته لفطر ***Puccinia striiformis*** المسبب لمرض الصدأ الأصفر، ولكن ظهرت سلالة جديدة من الفطر قادرة على كسر المقاومة الرأسية للصنف فى نفس الموسم، ومع سرعة انتشارها .. توقفت التوصية بزراعة هذا الصنف فى عام 1984.

المقاومة الرأسية بين التوسع فى استخدامها وتنظيم الاعتماد عليها

إن من أهم الأسباب التى جعلت مربى النبات يستمرون فى إنتاج الأصناف التى تحمل جينات المقاومة الرئيسية (R genes) على الرغم من عدم ثباتها، ما يلى:

1 - إلحاح أقسام التسويق فى شركات إنتاج البذور فى طلب أصناف جديدة بصورة دائمة لإضافتها إلى كتالوجات الأصناف. كذلك يحتاج المربون العاملون فى القطاع العام والحكومى إلى إنتاج أصناف جديدة بصورة مستمرة لكى يستمر الدعم المالى لأبحاثهم.

2 - المقاومة للأمراض ليست أكثر من صفة واحدة تُسهم فى تسويق الأصناف، وفى كثير من الحالات لم تكن المقاومة هى الصفة الرئيسية التى تجعل الصنف مطلوبًا لدى المزارعين.

3 - حتى عهد قريب كان يتم تبادل مصادر المقاومة بحرية تامة بين المربين؛ مما أدى إلى نقل تلك الجينات إلى أصناف جديدة متباينة فى صفاتها الزراعية؛ الأمر الذى أدى إلى انتشار جينات المقاومة فى الزراعة، وما أعقب ذلك من حدوث ضغط انتخابى على المسببات المرضية لإنتاج سلالات قادرة على كسر المقاومة.

4 - لم تكن مكافحة الأمراض تشكل مشكلة لدى المزارعين حتى ثمانينيات القرن العشرين، حيث كان استعمال المبيدات مباحًا دون قيود تذكر؛ ولذا .. لم تكن صفة المقاومة أمرًا ذا أهمية كبيرة فى اختيار المزارعين للأصناف الجديدة، كما لم يكن يُخشى من ظهور السلالات المرضية القادرة على كسر المقاومة نظرًا لتوفر بدائل للمكافحة.

5 - تطلبت الضغوط التجارية - إذا ما استقر الأمر على إدراج المقاومة فى برنامج التربية - أن يتحقق ذلك بأقصى سرعة ممكنة. وحتى مع توقع كسر المقاومة فإن السبق فى عرض الأصناف الجديدة المقاومة يعطى فرصة أكبر لتسويقها قبل ظهور السلالات الجديدة.

6 - كان يتوفر دائمًا مصادر جديدة لجينات المقاومة الرئيسية (R genes)؛ مما أتاح إنتاج أصنافًا جديدة مقاومة بصورة مستمرة.

7 - لا تُعطِى حقوق الملكية الفكرية حماية للجينات المدخلة فى الأصناف الجديدة، فما أن يُعتمد أى صنف جديد، إلا وتصبح الجينات التى نقلت إليه متاحة لكافة المربين لإدخالها ضمن برامجهم؛ أى إن المربى لا تكون لديه أى فكرة عن الاحتمالات المستقبلية للتوسع فى استخدام الجينات التى اكتشفها؛ وبذا .. فإنه لا يتوفر لديه الحافز لبذل الوقت والجهد اللازمين لإنتاج أصناف بها مقاومة كمية طالما كان بإمكان الآخرين فصل توافقات من جينات المقاومة واستعمالها بحرية.

8 - فى كثير من الأحيان لم يكن يتوفر للمربين أى فكرة عن انتشار سلالات المسبب المرضى، وما إذا كانت جينات الضراوة التى قد تقضى على المقاومة التى يعملون عليها تتواجد بالفعل فى منطقة الزراعة المستهدفة أم لا تتواجد.

ومن أهم الأسباب التى دعت إلى إعادة النظر فى كيفية تداول واستخدام جينات المقاومة الرئيسية (R genes) فى برامج التربية، ما يلى:

1 - أدى الاستخدام الواسع النطاق والوقائى - غالبًا - للمبيدات الفطرية بعد ظهور السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة إلى ظهور سلالات أخرى من الفطريات غير حساسة للمبيدات.

2 - ازدادت أهمية خفض تكاليف الإنتاج، وليس أفضل من زراعة الأصناف المقاومة - التى تبقى مقاومة - لتحقيق ذلك الهدف.

3 - يؤدى الاستعمال الواسع النطاق للمبيدات إلى مخاطر بيئية وأخرى على صحة الإنسان؛ الأمر الذى ازداد معه إصرار المستهلكين على الحد من استعمالها؛ وليس هناك أفضل من زراعة الأصناف المقاومة كوسيلة صديقة للبيئة لمقاومة الأمراض والآفات.

4 - تنحسر تدريجيًّا أعداد المبيدات المرخصة للاستعمال، خاصة مع المحاصيل المحدودة الانتشار فى الزراعة كالخضروات؛ ذلك لأن تكلفة تسجيل المبيدات الجديدة للاستعمال مع تلك المحاصيل تعد عالية جدًّا مقارنة بالعائد المحتمل للشركات المنتجة لها من استعمالها على تلك المحاصيل.

5 - تقل تدريجيًّا أعداد الجينات الرئيسية (الـ R genes) المتاحة للمربين بعد أن استُنفِذ معظمها فى التربية بالفعل، وأصبح مطلوبًا من المربين - فى كثير من المحاصيل - البحث عن تلك الجينات فى جيرمبلازم الأنواع البرية القريبة من المحصول. وعلى الرغم من ذلك العناء الذى يبذل فى البحث عن جينات المقاومة الرئيسية فإن تلك المتحصل عليها من الأنواع البرية القريبة من المحصول لا تختلف - غالبًا - فى تفاعلها مع سلالات المسبب المرضى عن جينات المقاومة المتحصل عليها من المحصول ذاته.

6 - تمثل جينات المقاومة الرئيسية القديمة old R genes استثمارًا هائلاً فى الوقت والجهد وتعد ثروة وراثية كبيرة. فمثلاً .. يعرف فى القمح أكثر من 90 جينًا تتحكم فى المقاومة لسلالات خاصة من أنواع الأصداء الثلاثة (Puccinia striiformis، و P. recondita، و P. graminis) والبياض الدقيقى (Blumeria graminis وهو الذى كان يعرف سابقًا بالاسم Erysiphe graminis). وتوجد حاليًا حاجة ملحة لإعادة استخدام تلك الجينات القديمة بطريقة تتيح زيادة جدواها فى مقاومة الأمراض.

7 - سمحت التكنولوجيا الحيوية بالاستفادة من جينات للمقاومة المتاحة وتداولها بين الأنواع النباتية بطريقة لم تكن متاحة من قبل، كما قد تفيد تقنيات الدنا فى تحوير جينات المقاومة الرئيسية بطريقة تجعلها أكثر ثباتًا فى مواجهة قدرة المسببات على تكوين سلالات أكثر ضراوة.

وعلى الرغم من كل الانتقادات التى وجهت إلى المقاومة الرأسية، فقد حقق استعمال جينات المقاومة الرئيسية (الـ R genes) نجاحًا كبيرًا فى مقاومة عديد من الأمراض، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - استخدمت الجينات - منفردة - فى حالات كثيرة منها فيرس موزايك الخس فى الخس الذى أمكن مقاومته لأكثر من ربع قرن بالاستعانة بجين واحد، وعلى الرغم من ظهور طرز جديدة من الفيرس فى بداية تسعينيات القرن الماضى - كان بعضها قادرًا على الانتقال عن طريق البذور فى الأصناف الحاملة لجين المقاومة؛ مما حدا إلى الاعتقاد بأن المقاومة قد كسرت - فإن تلك الطرز الباثولوجية لم تتسبب فى حدوث إصابات وبائية فى الأصناف الحاملة لجينات المقاومة إلاّ حينما لم تختبر بذورها لتواجد الفيرس فيها. وأدى إخضاع تقاوى تلك الأصناف لاختبارات الفيرس إلى استمرار مقاومتها حتى للسلالات الجديدة من فيرس موزايك الخس التى تحتوى على جين الضراوة المقابل لجين المقاومة.

2 - استخدمت جينات المقاومة القديمة (التى سبق الاستغناء عنها) مع الرش بالمبيدات الفطرية فى مكافحـة البياض الزغبـى فى الخس لأكثر من ربع قرن من الزمان.

3 - أمكن حماية الأرز فى الصين من الإصابة بمرض العصفة blast الذى يسببه الفطر Magnaporthe grisea بتبادل زراعة خطوط من الصنف القابل للإصابة ذات النوعية الجيدة والصنف المقاوم ذات النوعية الرديئة، ثم حصاد كل منهما منفردًا يدويًّا، وبهذه الطريقة أمكن زيادة محصول الأصناف الجيدة النوعية بنسبة 89% حيث أظهرت نقصًا فى شدة الإصابة بالعصفة بلغ 94% (عن Pink 2002).

الطرق الخاصة بالتربية لمقاومة الأمراض

الأصناف المتعددة السلالات

يتكون الصنف المتعدد السلالات Multiline Variety من خليط من السلالات المتماثلة فى جميع الصفات، ولكنها تختلف فى احتواء كل منها على جين مختلف للمقاومة الرأسية، وهى أصناف تفيد فى مقاومة الأمراض السريعة الانتشار Compound Interest Diseases بشكل جيد.

ولقد كان Jensen هو أول من اقترح استخدام الأصناف المتعددة السلالات لمقاومة الصدأ فى الشوفان، وكانت وسيلته لتحقيق ذلك هى خلط سلالات نقية مختلفة فى تركيبها الوراثى، ولكنها متشابهة مظهريًّا إلى حد كبير، وتختلف فى حمل كل منها لجين مختلف من جينات المقاومة الرأسية.

وأعقب ذلك اقتراح Borlaug باتباع التلقيح الرجعى لإنتاج سلالات ذات أصول وراثية متشابهة Isogenic Lines، ولكنها تختلف فيما تحمله من جينات المقاومة الرأسية. أى إن سلالات الصنف المتعدد السلالات تتشابه فى جميع الصفات الهامة، ولكنها تكون مختلفة بالنسبة للمسبب المرضى.

وعلى الرغم من أن الأصناف المتعددة السلالات multilane varieties تعتمد على المقاومات الخاصة بسلالات معينة من المسبب المرضى race specific resistance، فإنها تستفيد من المزايا المشتركة لكل من خاصيتى المقاومة الخاصة بسلالات معينة، والمقاومة غير الخاصة بسلالات معينة race non-specific. لذا .. فقد أُطلق عليها أسماء أخرى، مثل الأصناف المتحملة التركيبية synthetic tolerant varieties، والأصناف ذات المقاومة الأفقية التركيبية synthetic horizontal resistance، ومقاومة العشيرة population resistance.

يتكون الصنف المتعدد السلالات عادة من 8-12 سلالة. تخلط هذه السلالات بنسب غير متساوية، ويتوقف ذلك على قوة جينات المقاومة الرأسية التى تحملها، وعلى النسبة الفعلية والمتوقعة لمختلف سلالات الطفيل بالمنطقة. ويمكن تغيير السلالات المكونة للصنف ونسبتها - من سنة لأخرى - حسب سلالات الطفيل الشائعة فى المنطقة.

وقد لخص Van der Plank (1963) العوامل المؤثرة على سرعة انتشار المرض خلال مجموعة من النباتات فى المعادلة التالية:

$$X_t = X_0 e^{rt}$$

حيث إن:

X_t = العدد الكلى للجراثيم المنتجة فى مجموعة من النباتات فى زمن معين t.

X_0 = عدد الجراثيم الذى أحدث الإصابة الأولية فى هذه المجموعة من النباتات.

r = معدل الزيادة فى عدد الجراثيم الجديدة يوميًّا.

e = ثابت = 2.718 (بالنسبة لمرض صدأ الأوراق فى القمح).

يؤدى أى نقص فى كل من X_0، أو r إلى تأخير انتشار المسبب المرضى على النباتات فى الحقل. ويمكن أن يؤدى تأخير انتشار المرض لعدة أيام خلال المرحلة الحرجة لامتلاء البذور (فى محاصيل الحبوب)، أو الدرنات، أو الثمار .. إلخ، إلى تأثيرات إيجابية هامة على النباتات القابلة للإصابة.

ويتحدد عدد الجراثيم التى يكون بمقدورها إحداث الإصابة الأولية فى مجموعة من النباتات (X_0) بعدد النباتات القابلة للإصابة التى يمكن لهذه الجراثيم إصابتها، لأن الجرثومة لا تُسهم فى انتشار المرض إذا وقعت على نبات لا يمكنها إصابته. وكلما ازدادت نسبة النباتات المقاومة فى الحقل نقصت قيمة X_0.

ويتأثر معدل الزيادة فى عدد الجراثيم الجديدة يوميًّا (r) بقدرة الجراثيم على إصابة النباتات وإنتاج جراثيم جديدة، وبعدد الجراثيم الجديدة القادرة على إحداث الإصابات أيضًا. ونجد فى الأصناف المتعددة السلالات أن الجراثيم الجديدة التى تقع على نباتات مقاومة تكون غير فعالة، وهو ما يمنع إسهامها فى إحداث أية زيادة فى معدل إنتاج الجراثيم.

ولتوضيح طبيعة الدور الذى تلعبه الأصناف المتعددة السلالات فى الحد من انتشار الأمراض نأخذ - كمثال افتراضى - صنفًا يتكون من أربع سلالات، تحمل كل منها جينًا قويًّا من جينات المقاومة الرأسية R1، و R2، و R3، و R4. نفترض كذلك وجود علاقة بين هذه الجينات وسلالات المسبب المرضى كتلك الموجودة فى حالة الندوة المتأخرة فى البطاطس. فإذا زرع صنف كهذا الصنف لعدة سنوات فإن الطفيل يتمكن بمرور الوقت من تكوين جميع السلالات المركبة الممكنة، بالإضافة إلى السلالات البسيطة، وتكون أوضاعها كما يلى:

1 - السلالة المعقدة (1, 2, 3, 4):

يمكن لهذه السلالة إصابة جميع السلالات المكونة للصنف، لكن لأن كل سلالة من سلالات الصنف لا تحمل سوى جين واحد من جينات المقاومة الرأسية؛ لذا .. فإن سلالة الطفيل تحمل ثلاثة جينات زائدة غير ضرورية للضراوة الرأسية Virulence؛ الأمر الذى يحد من قدرتها على البقاء.

2 - السلالات المركبة (1, 2, 3)، و (1, 2, 4)، و (1, 3, 4)، و (2, 3, 4):

يمكن لكل واحدة من هذه السلالات إصابة ثلاث من السلالات المكونة للصنف، أى أن كلا منها يمكنها الانتشار فى الحقل دون موانع إلا فى 25% من النباتات. إلاّ أن كل سلالة منها تحمل جينين زائدين غير ضروريين للضراوة؛ الأمر الذى يحد من قدرتها على البقاء.

3 - السلالات (2 ,1)، و (3 ,1)، و (4 ,1)، و (3 ,2)، و (4 ,2)، و (4 ,3):

يمكن لكل سلالة من هذه السلالات إصابة اثنتين فقط من السلالات المكونة للصنف، وبذا .. فإنها تنتشر فى الحقل دون موانع إلا فى 50% فقط من النباتات، إلا أن كل سلالة منها تحمل جينًا زائدًا غير ضرورى للضراوة، مما يحد قليلاً من قدرتها على البقاء.

4 - السلالات (1)، و (2)، و (3)، و (4):

برغم أن هذه السلالات لا تحمل أية جينات زائدة غير ضرورية للضراوة - أى إن قدرتها على البقاء عالية - إلاّ أن كل سلالة منها لا يمكنها أن تصيب إلا سلالة واحدة من السلالات المكونة للصنف؛ وبذا .. فإنها تواجه بموانع فى الحقل فى 75% من النباتات.

يتبين مما تقدم أن سلالات الطفيل الخمس عشرة تقاسى إما من نقص فى القدرة على البقاء بسبب الضراوة الرأسية الزائدة غير الضرورية، وإما من النباتات المقاومة لها التى تعترض طريقها - والتى تكون بمثابة مصيدة لها - وإما من العاملين المعوقين لها مجتمعين. وتكون المحصلة النهائية لذلك كله إبطاء تقدم المرض بطريقة تشبه المقاومة الأفقية العالية.

وإذا أُدخلت جينات المقاومة الرأسية فى السلالات المكونة للصنف فى أزواج .. فإن درجة الإعاقة التى تواجهها سلالات المسبب المرضى تزداد كثيراً. نفترض فى هذه الحالة أن الصنف يتكون من ست سلالات يحمل كل منها جينين كما يلى: (R1، R2)، و (R1، R3)، و (R1، R4)، و (R2، R3)، و (R2، R4)، (R3، R4) وأن هذه السلالات توجد فى الصنف بنسب متساوية. يتضح فى هذا المثال أن سلالات المسبب المرضى التى لا يوجد بها ضراوة رأسية زائدة غير ضرورية سوف تتعرض للإعاقة من خمسة أسداس النباتات بدلاً من ثلاثة أرباعها كما فى المثال الأول.

وهكذا بالنسبة لبقية السلالات. إلا أن ذلك يكون مصاحبًا بنقص فى القدرة على البقاء أقل مما كان عليه الحال فى المثال الأول .. فالسلالة المعقدة (1,2,3,4) التى كانت تحمل ثلاثة جينات زائدة غير ضرورية للضراوة فى المثال الأول أصبحت تحمل جينين فقط زائدين فى هذا المثال. ولا يستطيع الإنسان معرفة أى الطريقتين أصلح لاستعمال جينات المقاومة الرأسية دون إجراء بعض الحسابات الكمية.

أما بالنسبة لعدد جينات المقاومة الرأسية التى يوصى باستخدامها فى الصنف المتعدد السلالات، فإنه يفضل زيادتها، بشرط أن تكون قوية وغير مرتبطة بجينات ضارة. فإذا تكون الصنف من عشر سلالات تحمل كل منها جينًا واحدًا قويًّا للمقاومة الرأسية فإن العوائق التى تواجهها سلالات المسبب المرضى تزداد كثيراً .. فأكثر السلالات تعقيدًا (التى تحمل عشرة جينات للضراوة) سوف تقاسى من حملها لتسعة جينات زائدة غير ضرورية للضراوة، بينما لا يمكن لأية واحدة من السلالات البسيطة الممكنة أن تصيب 90% من النباتات فى الحقل.

وتتوقف نسبة السلالات المختلفة التى تدخل فى تكوين الصنف على قوة الجينات التى تحملها كل من هذه السلالات. فيجب أن تكون السلالات التى تحمل أكثر الجينات قوة أعلاها نسبة.

وتكون الأصناف المتعددة السلالات إما متجانسة تمامًا إذا كانت السلالات المكونة لها ذات أصول وراثية متشابهة **Isogenic Lines**، أو غير متجانسة وراثيًّا - وإن كانت متجانسة مظهريًّا - إذا تكوّن الصنف من مجموعة من السلالات النقية المختلفة.

وعلى الرغم من أن المقاومة التى يظهرها الصنف المتعدد السلالات تتشابه فى محصلتها النهائية - وهى إبطاء تقدم الوباء - مع المقاومة الأفقية الجيدة، إلا أنه توجد فروق هامة بينهما كما يلى:

1 - يتحكم فى المقاومة الأفقية - عادة - عدد كبير من الجينات، قد يكون من بينها جينات مرتبطة بأخرى غير مرغوب فيها، وتلك مشكلة لا توجد بالنسبة للأصناف المتعددة السلالات.

2 - تكون التربية بطريقة التهجين الرجعى لنقل جينات المقاومة الرأسية لمجموعة من السلالات أسهل من التربية لإدخال صفة المقاومة الأفقية (التى يتحكم فيها عدد كبير من الجينات) فى صنف جديد.

3 - تزداد حدة المشكلة السابقة عند محاولة التربية لمقاومة مرضين فى آن واحد، وهو الأمر الذى يكون مطلوبًا فى أحيان كثيرة.

4 - تجمع الأصناف المتعددة السلالات بين مميزات المقاومتين الرأسية والأفقية. فتظهر المقاومة الرأسية فى أفضل صورها فى اختبارات تقييم الأصناف فى محطات التجارب، حيث تبدو الفروق بينها وبين الأصناف غير الحاملة للمقاومة الرأسية واضحة وجوهرية؛ مما يشجع المربين على استعمالها. أما المقاومة الأفقية .. فإنها لا تظهر فى أفضل صورها إلا عند زراعة الصنف المقاوم على نطاق واسع؛ ولذا .. فغالبًا ما يرفضها المزارعون حتى قبل أن يمكن إثبات قيمتها الحقيقية. أما بالنسبة للأصناف المتعددة السلالات .. فإن المقاومة الرأسية تكون واضحة فى البداية، مما يشجع إدخالها فى السلالات التى تكوّن الصنف، ثم تصبح كالمقاومة الأفقية، وتظهر قيمتها الحقيقية بعد انتشار زراعة الصنف على نطاق واسع.

ومن أهم مزايا الأصناف المتعددة السلالات ما يلى:

1 - يمكن اعتبارها أصنافًا مخلقة تعطى مقاومة تشبه المقاومة الأفقية، بينما تكون أسهل وأسرع إنتاجًا من المقاومة الأفقية.

2 - تمكن المربى من استعمال أكثر من آليل للمقاومة فى الموقع الجينى الواحد.

3 - يمكن بواسطتها الاعتماد على جينات المقاومة الرأسية لفترات طويلة، حيث يمكن سحب السلالات الحاملة لجينات معينة وإعادتها فى أى وقت؛ تبعًا لمدى انتشارها وأهمية سلالات المسبب المرضى التى تقاومها تلك الجينات.

4 - يمكن زراعة هذه الأصناف لعدة سنوات دون أن تفقد مقاومتها؛ الأمر الذى يمكّن المزارع من التعرف على المعاملات الزراعية التى تناسبه لكى يعطى أعلى محصول له.

أما عيوب الأصناف المتعددة السلالات فهى كما يلى:

1 - ارتفاع تكلفة إنتاجها.

2 - تعد طريقة متحفظة للتربية، لأنها تتطلب من المربى الاعتماد على التراكيب الوراثية الموجودة دون محاولة إيجاد تراكيب وراثية جديدة.

ومن الاعتراضات التى أثيرت ضد استخدام الأصناف المتعددة السلالات فى الزراعة ما يلى:

1 - اعتقاد الكثيرين أن المقاومة الرأسية لابد أن تفقد بعد سنوات قليلة من استخدامها، وبذا .. فإن استخدام عدد كبير من جينات المقاومة الرأسية يعد إسرافًا فى استعمال هذه الجينات، لأنه يؤدى إلى فقدها، إلا أن هذا الاعتقاد لا يستند إلى الواقع إذا إن الانتخاب المثبت Stabilizing Selection يجعل السلالات الجديدة أقل قدرة على البقاء.

2 - اعتقاد البعض أن الصنف المتعدد السلالات يجب أن يدخل فى تكوينه عدد كبير من السلالات لكى يكون مفيدًا، وهو أمر لا يشجع المربين على تربية مثل هذه الأصناف. إلاّ أن عدد السلالات التى تدخل فى تكوين الصنف يتحدد بعوامل كثيرة كما سبق بيانه، ولا تستخدم فيها سوى الجينات القوية فقط، وهى قليلة العدد على أية حال.

ومنذ ثمانينيات القرن الماضى ذكر Frey (1982) أن استعمال الأصناف المتعددة السلالات فى الزراعة قد انتشر بالفعل فى عدد من دول العالم المنتجة للحبوب الصغيرة، كما قدم الأدلة العلمية الواقعية على أهمية هذه الأصناف فى مكافحة أمراض الصدأ.

ولقد اقترح لأجل تعظيم الاستفادة من الأصناف المتعددة السلالات اتباع أحد نظامين، كما يلى:

1 - نظام المحصول الذى يمكن أن تحدث فيه بعض الإصابة:

يعرف نظام الأصناف المتعددة السلالات الذى يمكن أن تحدث فيه بعض الإصابة باسم dirty crop approach، وفيه تكون نسبة معينة من السلالات قابلة للإصابة بالسلالات البسيطة من المسبب المرضى؛ الأمر الذى يترتب عليه إبطاء تكوين السلالات السوبر؛ مما يفيد فى زيادة فترة حياة الصنف - ويرجع ذلك التأخير فى تطور تكوين السلالات المعقدة السوبر إلى ظاهرة الانتخاب المثبت stabilizing selection.

2 - نظام المحصول الخالى من الإصابة:

يعرف نظام الأصناف المتعددة السلالات الذى لا يحدث فيه أية إصابة باسم clean crop approach، وفيه تحتوى جميع سلالات الصنف على جينات قوية للمقاومة؛ الأمر الذى يتطلب دومًا إحلال بعض المكونات - التى تتعرض للإصابة بسلالات جديدة من المسبب المرضى - بمكونات أخرى تحتوى على جينات قوية أخرى لمقاومة السلالات الجديدة (عن Basandari & Basandari 2000).

ولمزيد من التفاصيل عن الأصناف المتعددة السلالات .. يراجع Browning & Frey (1969)، و Frey (1982).

مخاليط الأصناف

تُنتج مخاليط الأصناف Variety Mixtures أساسًا بهدف التغلب على مشكلة السلالات الفسيولوجية لمسببات الأمراض، ولكنها قد تُنتج أحيانًا لأغراض أخرى.

وبينما تتكون الأصناف المتعددة السلالات من مخلوط من سلالات اختبرت واختيرت بعناية وخلطت بذورها معًا بنسب معينة، مع تماثل هذه السلالات - معًا - فى صفاتها المحصولية واختلافها فى الجينات التى تحملها لمقاومة الطرز الباثولوجية المختلفة للمسبب المرضى المعنى بالمقاومة، فإن مخاليط الأصناف تتكون من مخلوط من أصناف مختلفة لا تخضع للاختبار والاختيار الدقيقين مثلما تخضع لها السلالات التى تدخل فى تكوين الأصناف المتعددة السلالات، إلاّ إنه لا يوجد مبرر لعدم دقة اختبار واختيار مكونات مخاليط الأصناف.

ولقد تبين لدى مراجعة أداء مخاليط الأصناف أن فائدتها كانت كبيرة فى مقاومة عديد من الأمراض. فمثلاً .. أدى استعمال مخاليط الأصناف - مقارنة بزراعة الأصناف النقية - إلى نقص الإصابة بالبياض الدقيقى حتى 80% فى الشعير، وحتى 60% فى القمح. وفى 29 حالة من مخاليط الأصناف لكل من الشعير والقمح .. بلغ النقص فى الإصابات المرضية (بكل من: Rhynchosporium secalis، و Septoria nodorum) أكثر من 30% مقارنة بزراعات الأصناف النقية (عن Pink 2002).

ومن أهم مزايا استخدام مخاليط الأصناف فى الزراعة ما يلى:

1 - خفض معدل الإصابة بالمرض - الذى تحمل الأصناف المكونة للمخلوط جينات المقاومة الرأسية الخاصة به - بدرجة عالية. فمثلاً .. قُدِّر الانخفاض فى معدل الإصابة فى حالة مرض البياض الدقيقى فى الشعير بنسبة 80% مقارنة بمتوسط الإصابة بالمرض فى الأصناف المكونة للمخلوط عند زراعتها منفردة.

2 - توجد دائمًا اختلافات طفيفة بين الأصناف المكونة للمخلوط فى صفات النمو، مثل: زاوية الورقة، وارتفاع النبات، والنمو الجذرى، وهو ما يؤدى إلى ضعف التنافس بين النباتات، وزيادة الاستفادة من الموارد البيئية كالأشعة الشمسية والماء، ويترتب على ذلك حدوث زيادة طفيفة فى المحصول حتى فى غياب الإصابة المرضية.

3 - تكون مخاليط الأصناف أقل تأثرًا بالتقلبات الحادة فى العوامل البيئية، التى يكون لها تأثير كبير فى محصول الأصناف المزروعة بمفردها، ذلك لأنه يكون من غير المحتمل أن تتأثر كل الأصناف المكونة للمخلوط بنفس القدر بالانحرافات البيئية. وبذا .. يكون محصول مخاليط الأصناف - على مر السنين - أكثر ثباتًا من محصول الأصناف المفردة.

ومن أهم عيوب استخدام مخاليط الأصناف فى الزراعة ما يلى:

1 - يعتبر الحصول على التوافقية (التركيبة) المناسبة من الأصناف المكونة للمخلوط من أكبر مشاكل تلك الأصناف، فبالنسبة للمطاحن .. لا تتوفر تركيبة مناسبة.

2 - احتمال ظهور سلالة فائقة **Super Race** من المسبب المرضى .. خاصة مع تعرض السلالات المرضية المتوفرة منه لعدد من جينات المقاومة الرأسية، حيث قد تظهر - حينئذٍ - سلالات تحمل جميع جينات الضراوة القادرة على التغلب على جميع جينات المقاومة. هذا .. إلا أنه لم يظهر - عمليًّا - ما يؤيد هذا الظن إلى الآن.

3 - تزيد أسعار تقاوى مخاليط الأصناف بنسبة 5-7% على أسعار تقاوى الأصناف العادية.

على الرغم من أن مخاليط الأصناف قد شاع استخدامها فى محاصيل الحبوب الصغيرة ونجحت فى مقاومة أمراض بعينها، هى: الأصداء والبياض الدقيقى - خاصة تحت ظروف الإصابة الوبائية بتلك الأمراض - إلاّ أنه تتوفر - حاليًّا - مخاليط لمحاصيل أخرى لأجل مكافحة مسببات مرضية أخرى يتميز بعضها بقدر ضئيل من التخصص العائلى، أو بالقدرة على الانتشار مع الرذاذ، أو بالمعيشة فى التربة، أو بالانتشار عن طريق النواقل **vectors**.

هذا .. ويزداد سنويًّا الاعتماد على مخاليط الأصناف فى الحد من بعض الإصابات المرضية. وعلى الرغم من أن بداية الاتجاه فى هذا المجال كانت بالاعتماد على الأصناف المتعددة السلالات، إلاّ أن مخاليط الأصناف هى الأكثر شيوعًا الآن باستثناء الحالات التى يتوفر فيها صنف فائق الجودة أو حينما يكون التجانس التام مطلوبًا؛ حيث يُعتمد حينئذٍ على الأصناف المتعددة السلالات التى تكون أصولها الوراثية متشابهة.

ولكى تكون مخاليط الأصناف مقبولة لدى المزارع فإنها يجب أن توفر له فوائد أخرى غير المقاومة للأمراض، ومن أهم تلك الفوائد زيادة المحصول حتى فى غياب المسببات المرضية، مع ثبات المحصول وعدم تأثره بالتقلبات فى عوامل الشدِّ البيئى (عن **Mundt 2002**).

وسائل تعظيم الاستفادة من جينات المقاومة

الحد من حاجة المسببات المرضية إلى تكوين طفرات أكثر ضراوة

لقد اقترح أن المحافظة على سلالات المسبب المرضى المتواجدة من الطفور إلى سلالات أكثر ضراوة يمكن أن يتحقق بتوفير عدد كافٍ من النباتات القابلة للإصابة بها؛ بحيث تتمكن من البقاء.

ولقد اقترح لتحقيق ذلك بديلين، هما:

1 - تبادل زراعة الأصناف المقاومة مع الأصناف القابلة للإصابة:

يمكن إحداث التبادل المنشود بين الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة باتباع دورة زراعية، مثلما أتبع فى إدارة مقاومة فول الصويا للنيماتودا المتحوصلة فى جنوب الولايات المتحدة؛ فبزراعة محصول غير عائل للنيماتودا، ثم صنف مقاوم من فول الصويا فى موسمين متتالين تنخفض أعداد النيماتودا إلى مستوى لا تحدث معه أى أضرار اقتصادية كبيرة عند زراعة صنف قابل للإصابة بعد ذلك، علمًا بأن زراعة الصنف القابل للإصابة تسمح باستمرار سيادة سلالة النيماتودا المتواجدة أصلاً على حساب أى سلالة طفرية جديدة قد تظهر وتكون قادرة على كسر المقاومة.

2 - زراعة مخاليط من التراكيب الوراثية المقاومة والقابلة للإصابة:

يؤدى تواجد التراكيب الوراثية القابلة للإصابة فى المخلوط إلى توفير الغذاء الذى يلزم لاستمرار تواجد سلالات المسبب المرضى وسيادتها على حساب أى سلالات جديدة قد تظهر وتكون قادرة على كسر المقاومة. هذا .. وتلزم المحافظة على بقاء نسبة التراكيب الوراثية القابلة للإصابة فى المخلوط منخفضة بقدر كافٍ لتجنب حدوث خسارة اقتصادية كبيرة (عن Fehr 1987).

تتأثر قدرة المقاومة على البقاء - بفاعلية - (durability) بمدى القدرة التطورية لعشيرة المسبب المرضى؛ حيث يمكن - غالبًا - للمسببات المرضية ذات القدرة التطورية العالية أن تتغلب على المقاومة الوراثية أكثر من تلك التى تكون قدرتها التطورية منخفضة. وقد اقترح McDonald & Linde (2002) أن المسببات المرضية التى تشكل أكبر تهديد للتغلب على جينات المقاومة هى تلك التى تتوفر لديها القدرة على التكاثر بدورة جنسية واحدة على الأقل خلال موسم النمو المحصولى، مع القدرة على التكاثر اللاجنسى خلال فترة الوباء المرضى، ومع امتلاكها قدرة عالية على التدفق الجينى gene flow. أما أقل المسببات المرضية قدرة على التغلب على جينات المقاومة فإنها تلك التى لا تقدر سوى على التكاثر اللاجنسى، مع انخفاض فى قدرتها على التدفق الجينى.

وترتبط القدرة التطورية العالية للمسببات المرضية بالعوامل التالية.

1 - ارتفاع معدل حدوث الطفرات، ويرتبط ذلك بتواجد العناصر المتنقلة transposable elements.

2 - زيادة حجم عشيرة المسبب المرضى؛ الأمر الذى يرتبط بالعوامل التالية:

أ - زيادة فى حجم العشيرة التى تبقى فى البيئة لحين موسم الزراعة التالى.

ب - ندرة الغياب الكامل للعشائر المحلية.

جـ - عدم حدوث انحرافات (أو انجرافات) وراثية genetic drift.

3 - ارتفاع معدل التدفق الجينى؛ الأمر الذى يرتبط بالعوامل التالية:

أ - انتشار أعضاء التكاثر اللاجنسية بالهواء لمسافات طويلة.

ب - الانتشار الجغرافى بعيد المدى عن طريق الإنسان.

4 - توفر نظام مختلط للتكاثر يحدث فيه تكاثر جنسى بين تراكيب وراثية متباينة، مع تكاثر لاجنسى تنتج فيه الجراثيم اللاجنسية بأعداد كبيرة.

5 - توفر الظروف التى تساعد على كفاءة الانتخاب الموجه directed selection لزيادة ضراوة المسبب المرضى من خلال زراعة الأصناف التى تحتوى على جين المقاومة (R-gene) المعنى فى مساحات شاسعة متجانسة عامًا بعد آخر.

هذا .. بينما ترتبط القدرة التطورية الضعيفة للمسببات المرضية بالظروف المخالفة لما أسلفنا بيانه أعلاه، وهى كما يلى:

1 - انخفاض معدل حدوث الطفرات مع غياب العناصر المتنقلة.

2 - صغر حجم عشائر المسبب المرضى؛ الأمر الذى يرتبط بالعوامل التالية:

أ - عدم تواجد المسبب المرضى أو أجزاءه التى يستخدمها فى التكاثر بين مواسم الزراعة.

ب - شيوع الاختفاء الكامل للعشائر المحلية بين مواسم الزراعة.

جـ - حدوث انجراف وراثى بدرجة جوهرية.

3 - انخفاض معدل التدفق الجينى، كأن تُحمل أجزاء التكاثر اللاجنسية فى التربة وتنتقل من خلالها.

4 - لا يُنتج المسبب المرضى سوى الجراثيم أو أعضاء التكاثر اللاجنسية.

5 - يكون نظام الزراعة معطِّلاً لعملية الانتخاب الموجه لزيادة ضراوة المسبب المرضى، كما فى حالتى:

أ - استعمال جينات المقاومة R-genes فى مخاليط صنفية أو فى سلالات من الصنف الواحد.

ب - استعمال جينات المقاومة فى دورات مكانية وزمانية (عن McDonald & Linde 2002).

وبناء على ما تقدم .. فقد اقترح McDonald & Linde (2002) مقياسًا لشدة القدرة التطورية - وما يصاحبها من خطورة فقد جينات المقاومة - يتوقف على كلٍ من طريقة التكاثر ونظام التزاوج reproduction/mating system من جهة، ومدى التدفق الجينى gene flow من جهة أخرى.

وقد اقتُرحت ثلاثة مستويات لعامل طريقة التكاثر ونظام التزاوج، كما يلى:

1 - منخفض .. حيث يكون التزاوج لاجنسيًّا فقط، مع انخفاض التنوع الوراثى.

2 - متوسط .. حيث يكون هناك تزاوج جنسى خلطى مع تربية داخلية؛ مما يؤدى إلى زيادة التنوع الوراثى.

3 - مختلط mixed .. وهو الذى يناسب الحالات الوبائية.

كذلك اقترحت ثلاثة مستويات لعامل التدفق الجينى، كما يلى:

1 - منخفض .. وفيه تعيش أجزاء التكاثر فى التربة ويكون من الصعب انتشارها لمسافات تزيد عن خمسة أمتار.

2 - متوسط .. حيث تُحمل أجزاء التكاثر مع الماء، لتنتشر لمسافات قد تصل إلى 100م داخل الحقل الواحد.

3 - عالٍ .. حيث تُحمل أجزاء التكاثر عن طريق الهواء؛ لتنتشر إلى مسافات تُقدر بعشرات أو بمئات الكيلومترات.

أما المقياس المقترح لشدة القدرة التطورية فيعتمد على التفاعل بين مستويات كلا العاملين، كما يلى (McDonald & Linde 2002):

مستوى عامل طريقة التكاثر ونظام التزاوج	مستوى عامل التدفق الجينى	شدة التفاعل	الأمثلة
1	1	1	Fusarium oxysporum f. sp. meloins, lycopersici, and cubense
			Xanthomonas campestris pv. vesicatoria
			X. oryzae pv. oryzae
			الفيروسات التى تحمل فى التربة
1	2	2	Erwinia amylovora
1	3	3	Magnaporthe grisea
			Colletotrichum graminicola
			Cladosporium fulvum
			Puccinia graminis f. sp. tritici
			Puccinia striiformis
2	1	2	Armillaria mella
2	2	4	Tilletia (التفحمات بصورة عامة)
2	3	6	Sporisorum reilianum
3	1	3	Phytopthora sojae
3	2	6	Rhynchosporium secalis

Mycosphaerella fijiensis			
Mycosphaerella graminicola			
Venturia inaequalis			
Rhizoctonia solani			
Blumeria graminis	9	3	3
Bremia lactucae			
Phytopthora infestans			
Puccinia graminis f. sp. tritici			
(pre-1930s)			

يفترض هذا الإنموذج ثبات معدل حدوث الطفرات وكفاءة انتخابية واحدة لكل المسببات المرضية، وإذا ما كان حجم العشيرة المتبقى بين فصول الزراعة كبيرًا جدًّا تضرب شدة التفاعل فى 1.5، أما إذا كان حجم العشيرة المتبقى بين فصول الزراعة صغيرًا جدًّا تضرب شدة التفاعل فى 0.5.

هذا وتتطلب مواجهة أخطار المسببات المرضية التى وردت أسماءها تحت درجات الخطورة المختلفة (من 1-9) اللجوء إلى استراتيجيات خاصة فى استعمال جينات المقاومة فى برامج التربية، هى:

1 - تهريم الجينات الرئيسية للمقاومة Major Gene Resistance Pyramiding (MGRP).

2 - استعمال جينات مقاومة رئيسية مفردة Single MGR (SMGR).

3 - اللجوء إلى المقاومة الكمية Quantitative Resistance (QR).

4 - استعمال مخاليط الأصناف mixtures والأصناف المتعددة السلالات multilines.

وتُقترح - لذلك - الاستراتيجيات التالية لمختلف المسببات المرضية (McDonald & Linde 2002).

المسبب المرضى	درجة الخطورة	الاستراتيجيات المقترحة
الأصداء غير الجنسية التكاثر	3	MGRP
Colletotrichum graminicola	3	MGRP
Fusarium oxysporum	1	SMGR
Mycosphaerella graminicola	6	QR, MGR, mixtures, multilines
Phaeosphaeria nodorum	6	QR, MGR, mixtures, multilines
Phytophthora infestans	3	MGRP
Rhizoctonia solani		QR, MGR, mixtures, multilines
Rhynchosporium secalis	6	QR, MGR, mixtures, multilines
Sporisorium reiliantum	4	SMGR, MGRP

تهريم الجينات

تُعَرَّف عملية تهريم الجينات gene pyramiding بأنها النقل المتزامن (فى آن واحد) لعدد كبير من جينات المقاومة الرئيسية فى نفس الصنف التجارى.

قام المربون فى كثير من الأحيان بإضافة جينات المقاومة للمسبب المرضى الواحد - فى نفس الصنف التجارى الناجح - واحدًا تلو الآخر. ومن أبرز الأمثلة على ذلك المقاومة للفطر **Bremia lactucae** مسبب مرض البياض الزغبى فى الخس؛ فكثير من أصناف الخس أصبحت تحتوى على ثلاثة جينات رئيسية للمقاومة. هذا إلاّ أن الإضافات الجينية الجديدة كانت تنفذ فى أصناف تحتوى على جينات أخرى أصبحت - بالفعل - عديمة الجدوى أمام سلالات الفطر القادرة على كسر المقاومة التى توفرها؛ فآليلات الضراوة المقابلة لجينات المقاومة الرئيسية القديمة كانت موجودة بالفعل فى عشائر المسبب المرضى؛ وبذا .. فإنه على الرغم من أن الجين الجديد المضاف إلى سابقيه يمكن أن يوفر مقاومة لبعض الوقت، فإن قدرة المسبب المرضى على تكوين سلالة جديدة قادرة على كسر مقاومته لا يقابلها تحد كبير؛ إذ إن عليها أن تتغلب على مقاومة جين واحد فقط. وبالمقارنة .. فإن نقل جينات المقاومة الثلاثة لنفس الصنف فى آن واحد يمثل تحديًّا أكبر بكثير أمام قدرة المسبب المرضى على تكوين سلالة جديدة قادرة على كسر مقاومة الجينات الثلاثة مجتمعة؛ حيث يتطلب الأمر حدوث عدة طفرات متزامنة فى مواقع عدم الضراوة **Avr** لتكوين سلالة جديدة قادرة على البقاء. هذا .. إلا إنه - وحتى عهد قريب - لم يكن من الممكن نقل أكثر من جين واحد للمقاومة الرئيسية فى وقت واحد بسبب صعوبة تمييز التراكيب الوراثية التى تحتوى على جين واحد للمقاومة عن تلك التى تحتوى على جينين أو أكثر، وذلك بسبب عدم وجود السلالات القادرة على كسر مقاومة تلك الجينات بعد.

وفى ظل النظام القديم لتهريم الجينات (إضافتها واحدًا تلو الآخر) كانت المقاومة تحتفظ بثباتها إلى حين ظهور السلالات المرضية الجديدة، والتى كانت تتراوح من سنوات معدودة فى حالة الأمراض الفطرية التى تنتقل مسبباتها عن طريق الهواء، مثل فطريات الأصداء والبياض الدقيقى والندوة المتأخرة، إلى سنوات عديدة فى حالات الأمراض التى تعيش مسبباتها فى التربة.

ومع تطبيق تقنيات الدنا على عملية الانتخاب الجزيئى (الانتخاب بمساعدة المعلمات الجزيئية molecular marker-assisted selection) أصبح من الممكن نقل أكثر من جين للمقاومة الرئيسية فى آن واحد. كذلك فإن تقنيات الهندسة الوراثية تسمح بنقل أكثر من جين للمقاومة الرئيسية لنفس التركيب الوراثى فى آن واحد.

وعلى الرغم من أن تهريم جينات المقاومة بصورة متزامنة يحد كثيراً من قدرة المسبب المرضى على تطوير سلالة معقدة قادرة على كسر كل الجينات - معًا - فإن تلك الطريقة تضع ضغطًا انتخابيًا كبيراً على المسبب المرضى لكى يطور تلك السلالة؛ الأمر الذى يؤدى - فيما لو حدث - إلى فقد جينات المقاومة المستعملة - كلها - لقيمتها. وربما يُفيد فى هذا الشأن الاستفادة بجينات المقاومة الرئيسية كمخاليط فى أصناف هجين بالاستعانة بتقنيات الهندسة الوراثية، أو الانتخاب بمساعدة المعلمات الجزيئية، حيث يقلل ذلك من الضغط الانتخابى على المسبب المرضى لتطوير سلالات قادرة على كسر المقاومة (عن Pink 2002).

دور الأصناف المتعددة السلالات ومخاليط الأصناف

يبدو أن الأصناف المتعددة السلالات ومخاليط الأصناف تفيد فى مقاومة الأوبئة المرضية من خلال عدة تأثيرات، كما يلى:

1 - انخفاض نسبة النباتات القابلة للإصابة فى الحقل:

يحدث الانخفاض فى نسبة النباتات القابلة للإصابة فى الحقل بسبب عدم قدرة أى طراز باثولوجى على إصابة كل التراكيب الوراثية التى يتكون منها الصنف، وإنما يصيب نسبة بسيطة فقط منها.

2 - تشكل النباتات المقاومة عوائق أمام نسبة كبيرة من جراثيم المسبب المرضى، وهى الجراثيم التى تنتجها السلالات الباثولوجيـة التى لا يمكنها إصابة تلك النباتات.

3 - تُحدث التفاعلات غير المتوافقة بين التراكيب الوراثية المقاومة والطرز الباثولوجية التى لا يمكنها إصابتها .. تُحدث نوعًا من الحماية المكتسبة ضد الإصابة بالطرز الباثولوجية المتوافقة معها والتى قد تحط عليها لاحقًا.

هذا .. وتتباين تلك التأثيرات فى أهميتها؛ فهى تتأثر بكل من العوامل البيئية، ومكونات المخلوط الصنفى وتوزيعه فى الحقل، وخصائص المسبب المرضى (مثل طريقة انتشاره وتنوعه).

ولعل أهم ما يثير القلق بشأن استخدام الأصناف المتعددة السلالات ومخاليط الأصناف فى الزراعة هو احتمالات زيادتها لفرصة ظهور السلالات المعقدة للمسبب المرضى، إلاّ أن الشواهد تدل على خلاف ذلك، خاصة وأن عشيرة المسبب المرضى فى تلك الحقول تكون قليلة العدد؛ بما لا يسمح بفرصة كبيرة لظهور تلك السلالات.

تتميز الأصناف المتعددة السلالات على مخاليط الأصناف بأنها أكثر تجانسًا؛ الأمر الذى تتطلبه الزراعة الحديثة، لكن يقابل ذلك احتياجها لوقت وجهد أكبر لإنتاجها؛ بما يجعل من الصعب سرعة الاستجابة لمتطلبات الأسواق أو للتغيرات فى الطرز الباثولوجية للمسببات المرضية. وبالمقارنة فإن مخاليط الأصناف يمكن تركيبها فى أى وقت مما يتوفر بالأسواق من أصناف. كذلك فإن مخاليط الأصناف يمكن تكوينها بما يسمح بمكافحة أكثر من مرض واحد، كما أن خلفيتها الوراثية المتباينة تجعلها أكثر قدرة على تحمل التباينات الكبيرة فى الشد البيئى؛ الأمر الذى ينعكس إيجابيًّا على قدرتها الإنتاجية. ومع ذلك فإن ذلك التباين الوراثى هو ذاته الخاصية التى جعلت مخاليط الأصناف أقل قبولاً لدى المزارعين. وبينما توجد أسباب عملية لعدم قبول تلك الأصناف فى محاصيل الخضر، فإن تلك الأسباب ليست أكثر من تخوفات لا خطر منها فى المحاصيل الحقلية.

ولاشك أن تقنيات الهندسة الوراثية يمكن أن تفيد كثيراً فى تجنب المشاكل المثارة أعلاه والخاصة بكل من الأصناف المتعددة السلالات ومخاليط الأصناف، ولا يتطلب الأمر سوى عزل جينات رئيسية (R genes) مختلفة للمقاومة، ثم نقلها بطرق الهندسة الوراثية إما إلى تركيب وراثى واحد مرغوب فيه ليصبح متعدد السلالات، وإما إلى أصناف مختلفة على درجة عالية من التجانس فى الصفات المحصولية لأجل تكوين مخلوط منها (عن Pink 2002).

توزيع المقاومة الرأسية زمانيًّا وجغرافيًّا بالتتابع

يمكن تحقيق ذلك التتابع للمقاومة الرأسية باتباع إحدى طريقتين - حسب نوعية المسبب المرضى - كما يلى:

1 - تبادل جينات المقاومة الرأسية - للمسبب المرضى الواحد - فى دورة زراعية فى المزرعة الواحدة، وهو أمر يفيد مع الفطريات التى تعيش فى التربة، مثل فطريات الذبول الفيوزارى وذبول فيرتسيليم.

2 - تتابع زراعة الأصناف التى تختلف فى جينات المقاومة الرأسية فى المناطق الجغرافية الواسعة التى تقع فى طريق تطور الوباء، وهو أمر يفيد فى مكافحة الأمراض التى تنتقل جراثيمها بالهواء لمئات الكيلومترات، مثل صدأ القمح، والندوة المتأخرة فى البطاطس (عن Basandari & Basandari 2000).

يؤدى تتابع زراعة الأصناف التى تختلف فى جينات المقاومة الرأسية - فى مناطق تقع عمودية على اتجاه حركة جراثيم المسبب المرضى - إلى غربلة سلالات المسبب المرضى أثناء مرورها على الأحزمة المتتابعة لحقول العائل. ومن الأمثلة الهامة على تلك الحالة توزيع أصناف القمح التى تحمل الجين Sr6 لمقاومة صدأ الساق فى أمريكا الشمالية؛ حيث تنتقل جراثيم الصدأ شمالاً، ولكنها تمر قبل وصولها إلى الأقماح الربيعية التى تحمل الجين Sr6 على أقماح الشتاء التى تفتقر إلى هذا الجين. ونظرًا لأن الطراز الباثولوجى القادر على التغلب على مقاومة الجين Sr6 يعد منافسًا ضعيفًا، فإن الأقماح الربيعية تعمل على الحد من تكاثره.

تبادل زراعة الأصناف الجديدة مع تلك التى سبق الاستغناء عنها بسبب فقدها لمقاومتها

عندما يتم الاستغناء عن أحد الأصناف التى تكسر مقاومتها بسبب ظهور سلالة جديدة قادرة على إصابته، فإن تواجد تلك السلالة ينخفض تدريجيًّا مع استمرار الاستغناء عن ذلك الصنف فى الزراعة إلى أن تصبح نادرة الوجود فى خلال 5-10 سنوات، ومن الطبيعى أن الأصناف الجديدة المقاومة التى يتم إدخالها فى الزراعة تفقد مقاومتها - هى الأخرى - بسبب ظهور سلالات جديدة قادرة على إصابتها، ويكون من المفيد - حينئذٍ - العودة إلى زراعة الصنف القديم، ما لم يكن أقل درجة فى صفاته الزراعية وصفات جودته الأخرى عن الأصناف الأحدث منه (عن Agrawal 1998).

التربية لمقاومة عدة أمراض فى الصنف الواحد

مع نجاح المربين فى التربية لمقاومة الأمراض أصبح هدفهم إنتاج أصناف مقاومة لعديد من الأمراض Multiple disease-resistant varieties، وقد تحقق ذلك الهدف فى عدة حالات.

أمثلة لحالات تعدد المقاومة للأمراض

نذكر - فيما يلى - بعض الأمثلة لحالات المقاومة المتعددة للأمراض:

1 - أنتج Crill وآخرون (1971) سلالة من الطماطم تحمل جينات لمقاومة ما يلى: السلالات 1، 2، 3، 4، 6 من الفطر Cladosporum fulvum، والسلالتين 1، 2 من الفطر Fusarium oxysporum f. lycopersici، والفطريات Stemphylium solani، و Alternaria solani، و Verticillum albo-atrum، وخمس سلالات من فيرس موزايك التبغ، بالإضافة إلى جينات المقاومة لعدد من العيوب الفسيولوجية؛ هى: تعفن الطرف الزهرى، والجدار الرمادى Gray wall، والقمة الصفراء Yellowtop، وجُدرى الثمار Fruit Pox، والبثور الذهبية Gold Fleck. ويقدر الباحثون الحد الأدنى لعدد الجينات التى تتحكم فى المقاومة للأمراض فى هذه السلالة بنحو 21 جينًا.

2 - تتوفر عديد من سلالات وهجن الطماطم التى تحمل جينات المقاومة كل من أمراض الذبول الفيوزارى وذبول فيرتيسيللم، ونيماتودا تعقد الجذور، وفيرس موزايك التبغ، والندوة المبكرة (VFNTA).

3 - يحمل صنف الطماطم Nemato جينات لمقاومة ما يلى: السلالات A، B، C، D، E من الفطر Fulvia fulva، والسلالة رقم 1 من الفطر F. oxysporum f. lycopersici، والفطرين V. albo-atrum، و V. dahliae، وأربع سلالات من فيرس موزايك التبغ؛ هى أرقام صفر، 1، 2:1، 2 (Fletcher 1984).

4 - أنتج Willams وآخرون (1968) هجينين من الكرنب هما: Hybelle، و Sanibel يحملان جينات لمقاومة كل من أمراض: الاصفرار الفيوزارى، وعفن الرأس الرايزكتونى، والبياض الدقيقى، وموزايك الكرنب، بالإضافة إلى مقاومة احتراق حواف الأوراق الداخلية وهو عيب فسيولوجى.

5 - تحمل بعض أصناف الخيار مقاومة متعددة للأمراض. ويبين جدول (9-9) حالة المقاومة فى بعض الأصناف التى أنتجها H. M. Munger بجامعة كورنل الأمريكية، علمًا بأنه لم تكن تتوفر مقاومة لأى من الأمراض المبينة فى الجدول فى أى من أصناف الخيار التجارية قبل عام 1965.

جدول (9-9): المقاومة المتعددة للأمراض التى تتوفر فى بعض أصناف الخيار الأمريكية.

المرض	Table	Table	Marketmore	Marketmore	Poinsett	Poinsett	Poinsett
	Green	Green 65	70	76 & 80	83	76	
فيرس موزايك الخيار	+	+	+	+	+	-	-
الجرب	-	+	+	+	+	+	-
البياض الدقيقى	±	±	-	+	+	+	+
البياض الزغبى	±	±	-	+	+	+	+

الأنثراكنوز	-	-	-	-	+	+	+
تبقع الأوراق الزاوى	-	-	-	-	+	+	+
Target leafspot	±	±	±	±	=	=	=

+ مقاوم، ± وسط، - قابل للإصابة، = شديد الحساسية.

الفرق بين الصنفين Marketmore، و Marketmore 80 أن الأخير يخلو نموه الخضرى من المرارة (عن H. M. Munger 1982).

6 - يعتبر صنف السبانخ Fall Green من أبرز الأمثلة على تعدد المقاومة للأمراض، حيث أوضحت الاختبارات التى أجريت عليه أنه يحتوى على ما يلى:

أ - مقاومة كمية لكل من: الصدأ الأبيض، والعفن الأزرق blue mold، والتدهور الفيوزارى Fusarium Decline، والذبول الطرى، والأنثراكنوز، والأنثراكنوز الثانوى Secondary Anthracnose.

ب - مستويات فعالة من المقاومة لكل من: تبقع الأوراق السركسبورى، وعفن فيتوفثورا الأسود.

جـ - مقاومة نوعية لفيرس موزايك الخيار المسبب لمرض اللفحة (Goode وآخرون 1988).

جدول (9-10): المقاومة المتعددة للأمراض والحشرات فى أصناف الأرز المرباه فى معهد بحوث الأرز الدولى بالفلبين (عن Khush 1992).

	الأمراض والآفات(أ)							
الصنف	العصفة	اللفحة البكتيرية	فيرس تنجارو	فيرس التقزم العشبى	نطاط الأوراق الأخضر	نطاطا النباتات البنى	ناخرات السوق	ذبابة التثألل
IRS	MR	S	S	S	R	S	MR	S
IR8	S	S	S	S	R	S	S	S
IR20	MR	R	S	S	R	S	MR	S
Ir22	S	R	S	S	S	S	S	S
IR24	S	S	S	S	R	S	S	S
IR26	MR	R	MR	S	R	S	MR	R
IR28	R	R	R	R	R	R	MR	S
IR32	MR	R	R	R	R	R	MR	R
IR36	MR	R	R	R	R	R	MR	R
IR38	MR	R	R	R	R	R	MR	R

IR42	MR	R	R	R	R	R	MR	R
IR46	MR	R	R	R	R	R	MR	R
IR50	S	R	R	R	R	R	S	-
IR54	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR58	MR	R	R	R	R	R	S	-
IR60	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR62	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR64	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR66	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR68	MR	R	R	R	R	R	MR	-
IR72	MR	R	R	R	R	R	MR	-

أ: R = مقاوم resistant، و S = قابل للإصابة susceptible، و MR = متوسط المقاومة moderately resistant.

اعتبارات التقييم للمقاومة المتعددة للأمراض

إن أهم ما تجب مراعاته عند إجراء اختبارات المقاومة المتعددة للأمراض هو ألا تؤدى الإصابة بأحد المسببات المرضية إلى جعل النبات مقاومًا لمسبب مرضى آخر، أو أن تكسر الإصابة بأحد الأمراض المقاومة لمرض آخر.

ولعل من أكبر مشاكل اختبارات المقاومة المتعددة للأمراض الحاجة إلى اختبار أعداد كبيرة من النباتات المنعزلة، ليتسنى الحصول على النباتات التى تحمل جينات المقاومة المرغوب فيها، وهى التى تكون نسبتها فى الجيل الثانى (1/2)ن × 100، حيث (ن) عدد أزواج الجينات المسئولة عن المقاومة.

وتختلف طريقة إجراء اختبارات التقييم المتعددة للأمراض باختلاف المحصول والأمراض التى يُراد التربية لمقاومتها. فمثلاً .. قام Harrison (1960) بغمس جذور الطماطم - وهى فى عمر 3-4 أسابيع - فى معلق لفطرى F. oxysporium f. lyco-persici، و A. solani، ثم شتلها فى تربة معدية بنيماتودا تعقد الجذور، وبمجرد أن استعادت النباتات نموها بعد صدمة الشتل .. قام برشها بمعلق لجراثيم وميسيليوم الفطر Stemphylium solani واحتفظ بها فى جو رطب لمدة 36-48 ساعة؛ إما فى حجرات نمو رطبة، أو تحت الرى بالرذاذ mist. وفى بعض الاختبارات كانت تعدى البادرات - فى مرحلة نمو الأوراق الفلقية - بالفطر المسبب لمرض تبقع الأوراق الرمادى.

وتجدر الإشارة إلى أن العدوى المختلطة للطماطم بالفطرين F. oxysporum f. lycopersici، و V. albo-atrum تؤدى إلى جعل النباتات المقاومة للفيوزاريم مقاومة كذلك لفطر الفيرتسيليم، حتى ولو كانت لا تحمل جين المقاومة لهذا الفطر. وقد اقترح Tigchelaar & Dick (1975) – تجنبًا لهذه المشكلة – عدوى النباتات بالفيرتسيليم، ثم عدوها بالفيوزاريم بعد ذلك بنحو 2-3 أيام.

مصادر إضافية فى مجال التربية لمقاومة الأمراض

من بين المصادر الإضافية التى يمكن الرجوع إليها فى مجال التربية لمقاومة الأمراض – وخاصة التربية لمقاومة النيماتودا - ما يلى:

المرجع	الموضوع
Kiraly وآخرون (1974)	الطرق المستخدمة فى مجال التربية المقاومة لأمراض فى مختلف المحاصيل الزراعية
Trudgill (1991)	التربية لمقاومة النيماتودا - مناقشة عامة للموضوع
Boerma & Hussey (1992)	تربية أصناف مقاومة للنيماتودا
Starr وآخرون (2002)	التربية لمقاومة النيماتودا - شامل للموضوع
Hussey & Janssen (2002)	التربية لمقاومة نيماتودا تعقد الجذور
Cook & Noel (2002)	التربية لمقاومة نيماتودا التحوصل
Plowright وآخرون (2002)	التربية لمقاومة نيماتودا الساق والأبصال
Robinson (2002)	التربية لمقاومة النيماتودا الكلوية
DeWaele & Elsen (2002)	التربية لمقاومة النيماتودا الداخلية التطفل المهاجرة migratory endoparasites
Verdejo-Lucas & Kaplan (2002)	التربية لمقاومة النيماتودا الحمضيات
Starr & Bendezu (2002)	التربية لمقاومة النيماتودا الخارجية التطفل

الفصل العاشر

تطبيقات الهندسة الوراثية فى مجال التربية لمقاومة الفيروسات

مقدمة

يُتحصل على الجينات التى تستعمل فى تحويل النباتات وراثيًّا لجعلها مقاومة للفيروسات من مصادر متنوعة؛ فهى قد تكون من الفيرس ذاته، أو من العائل النباتى الذى يرغب فى حمايته أو الأنواع القريبة منه، أو من مصادر نباتية راقية أخرى، أو من الكائنات الدقيقة، أو حتى من الثدييات بما فى ذلك الإنسان.

وتجرى غالبية عمليات التحول الوراثى لأجل إنتاج نباتات مقاومة للفيروسات بأى من الاستراتيجيات التالية:

1 – التعبير عن الجينوم الكامل للفيرس.

2 – التعبير عن جين الغلاف البروتينى.

3 – التعبير عن الشفرة المضادة لجين الغلاف البروتينى.

4 – التعبير عن تتابعات التوابع الفيروسية.

5 – التعبير عن الريبوزيمات **ribozymes**.

6 – التعبير عن جين انقسام الفيرس.

7 - التعبير عن رنا معيب ومعيق **defective interfering RNA**.

8 – التعبير عن الأجسام المضادة للفيروسات.

التحول الوراثى بجينات فيروسية

أمكن هندسة نباتات مقاومة للفيروسات بالاستفادة من جينات متحصل عليها من الفيروسات ذاتها، فيما يعرف باسم **pathogen-derived resistance**.

إن الفكرة من وراء ما يعرف بالمقاومة المستمدة من المسبب المرضى كما فى بعض حالات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات – هى أن التعبير عن بعض جينات المسبب المرضى (الفيرس فى حالتنا تلك) فى العائل سوف يخل بالتوازن الطبيعى لمكونات الفيرس؛ وبالتالى يتعارض مع دورة حياة الفيرس. وفى أكثر الحالات نجاحًا يؤدى ذلك الخلل إلى منع تكاثر الفيرس أو تحركه إلى أبعد من الخلية التى حدثت فيها الإصابة. وحتى فى الحالات التى يقل فيها التعارض مع دورة الحياة، فإن المقاومة المستمدة من المسبب المرضى ربما تحد من الأعراض المرضية، وتتسبب فى حدوث إصابات موضعية فقط.

وعلى الرغم من اختلاف الفيروسات فى طرق انقسامها، إلا أن جميع الفيروسات النباتية تشترك فى خطوات عامة فى دورات حياتها؛ فهى يجب أن تدخل خلايا العائل النباتى بإحدى طرق الانتقال الفيروسة المعروفة والتى تختلف من فيـرس لآخر، يلى ذلك حدوث انفتاح فى جزئ الفيرس أو تفكك جزئى لمحتوياته، مما يعرض دنا أو رنا الفيرس للوسط الخلوى المحيط به. وإذا ما كان الفيرس يحمل رنا كمادة وراثية فإنه يبدأ على الفور فى إنتاج البروتينات الخاصة بالفيرس (بروتينات الغلاف البروتينى) لأجل تكاثره. أما إذا كان الفيرس حاملاً لدنا كمادة وراثية فإنه يدخل نواة العائل أولاً ويوجه إنزيمات العائل لإنتاج الرنا الرسول المناسب لأجل نقل الشفرة الوراثية.

ومن أهم الخطوات فى تكاثر فيروسات الرنا إنتاج بروتين أو بروتينات إنزيم ال‍ـ replicase بالاعتماد على خلايا العائل ذاتها؛ الأمر الذى يؤدى إلى تكاثر الفيرس.

ويعتقد بأن معظم فيروسات الرنا تنتشر من خلية إلى أخرى عبر الروابط البروتوبلازمية plasmodesmata كحامض نووى (رنا) بحماية ومساعدة بروتين خاص بذلك، أو فى حالات الحركة لمسافة طويلة من خلال الاقتران بغلاف بروتينى نشط. وبذا .. فإن كل مرحلة من دورة الإصابة الفيروسية يمكن التأثير سلبيًّا عليها، وتلك المراحل هى: مرحلة التخلص من الغلاف البروتينى uncoating، وترجمة الشفرة الوراثية translation، والانقسام replication، والحركة. ويكون الهدف من هندسة نباتات مقاومة للفيروسات هو التعبير فيها عن جزء من الجينوم الفيروسى سواء أتضمن هذا التعبير الغلاف البروتينى، أم لم يتضمن؛ بما يتعارض مع أحد جوانب دورة التكاثر. وتتضمن استراتيجيات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات النباتية عدة اتجاهات كما سيأتى بيانه (عن Scholthof 1993).

الشفرة الوراثية الكاملة لسلالة ضعيفة من الفيرس

فى بداية محاولات إنتاج نباتات محولة وراثيًّا مقاومة للفيروسات اتجه الباحثون نحو نقل الحامض النووى الكامل complete genome الخاص بسلالة ضعيفة من الفيرس إلى النبات، حيث يمكن أن يكسب ذلك النبات وقاية ضد السلالات الأخرى الأكثر ضراوة من نفس الفيرس. وقد طبقت هذه الطريقة بالنسبة لفيرس موزايك التبغ فى التبغ، ونمت النباتات التى نقل إليها الحامض النووى للفيرس بصورة طبيعية، وكانت خالية من أعراض الفيرس، أو أظهرت موزايكا خفيفًا بالأوراق. ولم تتأثر هذه النباتات عندما تعرضت للعدوى بسلالة عالية الضراوة من نفس الفيرس.

ومن عيوب هذا التطبيق للهندسة الوراثية ما يلى:

1 – ضرورة العثور على سلالة ضعيفة من الفيرس.

2 – أن السلالة الضعيفة قد تؤثر على كمية، أو نوعية المحصول.

3 – قد تحدث طفرة بالسلالة الضعيفة تجعلها أكثر ضراوة.

4 – قد يحدث تفاعل بين هذه السلالة الضعيفة وفيروسات أخرى يترتب عليها حدوث أعراض مرضية شديدة، مثل التفاعل الذى يحدث بين فيرس موزايك التبغ وفيرس x البطاطس فى الطماطم الذى يؤدى إلى ظهور أعراض التخطيط المزدوج (عن Grumet 1990).

جين الغلاف البروتينى للفيرس

يطلق على المقاومة التى تتحقق عن طريق الغلاف البروتينى الفيروسى اسم viral coat protein mediated resistance (اختصارًا: CP-MR). ولقد عرف منذ عام 1986 أن نقل الجين المسئول عن تمثيل الغلاف البروتينى لفيرس موزايك التبغ إلى نبات التبغ قلل جوهريًّا تكاثر الفيرس بالنبات. وقد أعقب ذلك تطبيق هذه الطريقة بنجاح كبير فى عدد كبير جدًّا من الفيروسات والعوائل، وهى تعد أكثر الطرق شيوعًا فى مقاومة الأمراض الفيروسية، على الرغم من بعض الأمور التى تؤخذ عليها؛ فالحماية ضد الفيرس نادرًا ما تكون كاملة، كما توجد أمثلة لحالات كثيرة لم تُجد فيها تلك الطريقة فى الحماية من الفيرس.

هذا .. ويبدو أن التعبير الزائد للغلاف البروتينى للفيرس فى النبات العائل يتعارض مع خاصية تخلص الفيرس من غلافه، وكذلك يتعارض مع تكاثره وحركته، وربما مع مراحل أخرى من دورة حياته (عن Bent & Yu 1999).

وتعتمد هذه الطريقة فى مكافحة الفيروسات على مبدأ الوقاية المكتسبة بطريق الهندسة الوراثية، ولذا .. فإنه يطلق عليها – عادة – اسم genetically engineered cross protection، وهى تتشابه – من حيث المبدأ – مع الوقاية التى توفرها الإصابة بسلالة ضعيفة من الفيرس ضد الإصابة بسلالة أخرى منه عالية الضراوة، بسبب تواجد الغلاف البروتينى للسلالة الأولى قبل وصول السلالة الثانية. والفرق بين الوقاية المكتسبة فى الحالتين أن الغلاف البروتينى الفيروسى الذى يُصنِّعه النبات – فى الحالة الأولى – يكون خاليًا من الحامض النووى الفيروسى، بينما يتواجد الفيرس كاملاً فى حالة العدوى بسلالة ضعيفة للوقاية من سلالة أكثر ضراوة. وغنى عن البيان أن الوقاية المكتسبة بطريق الهندسة الوراثية تحقق جميع مزايا الوقاية المكتسبة الكلاسيكية دون أى من عيوبها.

هذا .. ولا يوفر الغلاف البروتينى الذى يُصنِّعه النبات وقاية ضد سلالة الفيرس التى أخذ منها الجين فقط، وإنما ضد جميع السلالات الأخرى لنفس الفيرس، وضد الفيروسات الأخرى التى تشترك مع الفيرس المعنى فى خصائصها السيرولوجية (عن Grumet 1990).

وتتميز جميع حالات التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات – باستعمال جين الغلاف البروتينى للفيروسات – بما يلى:

1 – تكون المواقع التى تحدث عندها الإصابة فى الأوراق المحقونة بالفيرس أقل عددًا من نظيراتها فى النباتات غير المحولة وراثيًّا.

2 – يكون معدل انتشار الإصابة الجهازية أقل سرعة مما فى النباتات العادية.

3 – يقل تراكم الفيرس فى النباتات المحولة وراثيًّا عما يحدث فى النباتات غير المحولة.

ويمكن – عادة – التغلب على مظاهر المقاومة تلك بزيادة التركيز المستخدم فى حقن الفيرس (عن Beachy وآخرين 1990).

ولقد نجحت هذه التقنية فى كل من النباتات ثنائية الفلقة وأحادية الفلقة على حد سواء.

وعلى الرغم من أن الحماية التى توفرها تقنية التحول الوراثى بالجين المسئول عن تكوين الغلاف البروتينى للفيرس تقتصر فقط على الفيرس المعنى والسلالات القريبة الشبه منه، إلا إنه تعرف بعض الحالات التى تمتد فيها الحماية إلى عدد من الفيروسات الأخرى المتباينة.

نجد فى معظم الحالات أن الغلاف البروتينى يعمل فقط ضد الفيرس الكامل، بينما لا يتأثر اللقاح الذى يتكون من الرنا الفيروسى المجرد من الغلاف البروتينى (عندما يجرى التلقيح تجريبيًّا) .. لا يتأثر بجين الغلاف البروتينى فى النبات؛ حيث يمكن للرنا الفيروسى إحداث الإصابة. هذا .. إلاّ أنه توجد حالات شاذة لتلك القاعدة.

ولأسباب ليست معروفة بعد .. نجد أن الحماية التى يوفرها التحول الوراثى بجين الغلاف البروتينى لا ترتبط بالضرورة بأى تعبير عن الغلاف البروتينى؛ ففى بعض الحالات كانت الحماية أعلى عند مستويات منخفضة من تراكم الغلاف البروتينى فى النبات.

وأحيانًا .. تتوفر الحماية نتيجة لتراكم الرنا الرسول mRNA الخاص بالغلاف البروتينى، دونما ارتباط بتراكم الغلاف البروتينى ذاته (عن Scholthof وآخرين 1993).

هذا .. وعند تلقيح (حقن) أوراق النباتات المحولة وراثيًّا بجين الغلاف البروتينى لفيرس ما .. عند حقنها بجزيئات الفيرس ذاته، فإنها تُظهر عددًا قليلاً من البقع الصفراء المخضرة أو المتحللة مقارنة بما يحدث فى النباتات العادية، كما تقل فيها الإصابة الجهازية، أو تتأخر، أو تنعدم. وفى جميع الحالات التى أجرى فيها التحول الوراثى بتلك الكيفية (كما فى كل من الفيروسات: موزايك التبغ، وموزايك البرسيم الحجازى، وإكس البطاطس، وموزايك الخيار، وتخطيط التبغ .. وهى ذات أشكال مختلفة، وتنتمى إلى مجموعات فيروسية مختلفة، وتنتقل – طبيعيًّا – بوسائل مختلفة) .. فى جميع هذه الحالات لم تظهر على النباتات المحولة وراثيًّا أية تأثيرات سلبية على النمو، أو الخصوبة، أو الشكل المظهرى للنبات، كما كانت المقاومة فيها ثابتة وراثيًّا وانتقلت للنسل لأجيال عديدة.

يتراوح تركيز الغلاف البروتينى للفيرس – عادة – بين 0.01%، و 0.2% من المحتوى البروتينى الذائب الكلى بالنباتات المحـولة وراثيًّا، ويتوقف التركيز الفعلى على الفيرس، والـ promoter المستعمل، وعدد نسخ جيـن الغلاف البروتينى التى نقلت فعلاً إلى النبات المحول وراثيًّا، وموضع إيلاج جين الغلاف البروتينى فى الهيئة الكروموسومية للنبات العائل.

ويتوقف مستوى المقاومة فى النباتات المحولة وراثيًّا على تركيز الغـلاف البروتينى فى النبات، وليس على الرنا الرسول للغلاف البروتينى (عن Grumet 1990).

وفى بعض الحالات نجد أن مستوى الحماية يتناسب طرديًّا مع مستوى التعبير عن الغلاف البروتينى فى النباتات، وذلك كما فى حالات: فيرس موزايك البرسيم الحجازى AlMV، وفيرس إكس البطاطس PVX، وفيرس تخطيط الأرز RSV، وفيرس اصفرار وتجعد أوراق الطماطم TYLCV. كذلك فإن خفض مستوى الغلاف البروتينى لفيرس موزايك التبغ TMV بالمعاملة الحرارية قلل من مستوى الحماية ضد الفيرس.

وبينما يصل تركيز فيرس التفاف أوراق البطاطس فى أوراق صنف البطاطس القابل للإصابة Maris Piper إلى 2900 نانوجرام لكل جرام، فإن ذلك التركيز ينخفض إلى 180، و 120 نانوجرام لكل جرام فى السلالتين المقاومتين G7032، و G7445 على التوالى (Barker وآخرون 1994ب). وبتحويل هاتين السلالتين المقاومتين للفيرس وراثيًّا بجين الغلاف البروتينى للفيرس انخفض تركيز الفيرس فى الأوراق بدرجة أكبر ليصل إلى 20-40 نانوجرام لكل جرام، وكان ذلك التركيز حوالى 1% مما وصل إليه تركيز الفيرس فى الأصناف القابلة للإصابة Désirée، و Maris Piper، و Pentland Square (Barker وآخرون 1994أ).

هذا .. إلاّ أنه فى حالات أخرى لا يوجد بالضرورة ارتباط بين مستوى الغلاف البروتينى ومستوى المقاومة، وذلك كما فى بعض الـ potyviruses، و luteoviruses، والـ tospoviruses. كما وجد أن الحماية ضد فيرس موزايك الزوكينى الأصفر ZYMV فى القاوون (والتى لا تظهر فيها على النباتات أية أعراض مرضية لمدة 90 يومًا بعد حقنها بالفيرس) لا ترتبط بمستوى التعبير عن الغلاف البروتينى فى النباتات المحولة وراثيًّا.

وفى حالات كثيرة .. أمكن كسر المقاومة التى يوفرها جين الغلاف البروتينى بزيادة تركيز اللقاح المستعمل فى حقن الفيرس، وذلك كما فى حالات فيرس موزايك التبغ، وفيرس موزايك البرسيم الحجازى، وفيرس ذبول الطماطم المتبقع TSWV، وفيرس موزايك فول الصويا SMV، وفيرس موزايك البطيخ WMV، وفيرس موزايك الزوكينى الأصفر، هذا .. إلا أنه ظهرت مستويات مختلفة من المقاومة عند التلقيح بتركيز واحد من فيروسات مختلفة لنباتات محولة وراثيًّا بجين الغلاف البروتينى لتلك الفيروسات. ومن الطبيعى أن المستويات العالية من المقاومة التى يمكن أن يوفرها جين الغلاف البروتينى تكون مطلوبة، ولكن الأهم هو أن تكون تلك المستويات مناسبة لمستويات اللقاح الفيروسى التى تحدث طبيعيًّا فى الظروف الحقلية.

وتجدر الإشارة إلى أنه فى حالات الفيروسات التى يمكن أن تنتقل إلى النبـاتات بأكثر من طريقة (مثل النقل بالمنّ والنقل الميكانيكى)، فإن المقاومة التى يوفرها جين الغلاف البروتينى تظهر عندما ينتقل الفيرس إلى النباتات بأى من الطريقتين، وذلك كما فى حالة فيرس موزايك الخيار CMV، وفيرس إكس البطاطس PVX، وفيرس واى البطاطس PVY، لكن ذلك لم يتحقق فى حالة فيرس خشخشة التبغ TRV – الذى ينتقل ميكانيكًّا وبالنيماتودا – حيث أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا مقاومة ضد الحقن الميكانيكى فقط (عن Grumet 1995).

ولقد أظهرت الدراسات بعض المفارقات فيما يتعلق بمدى المقاومة التى يوفرها جين الغلاف البروتينى لفيرس ما ضد الفيروسات الأخرى. وعلى سبيل المثال .. وجد أن جين الغلاف البروتينى لفيرس موزايك الخس LMV – وهو من الـ potyviruses – يعطى – كذلك – مقاومة تامة ضد فيــرس واى البطاطس PVY، وهو فيرس لا يتشابه مع فيرس LMV سوى فى 66% من الأحماض الأمينية، بينما لم يُكسب هذا الجين النباتات أية حماية ضد فيرس إتش التبغ TEV الذى يتساوى – كذلك – مع فيرس PVY فى نسبة الأحماض الأمينية التى تتشابه مع تلك التى يحملها فيرس LMV.

ومن ناحية أخرى .. وجد أن جين الغلاف البروتينى لفيرس موزايك وتقزم الذرة MDMV، وهو من الـ potyviruses، يكسب – كذلك – نباتات الذرة مقاومة ضد فيرس تبرقش واصفرار الذرة MCMV، وهو من مجموعة الـ carmoviruses. ليس هذا فقط .. بل إن حقن النباتات المحولة وراثيًّا – بجين الغلاف البروتينى للـ MDMV – بكلا الفيروسين وفرت حماية أكبر ضد الـ MCMV عما إذا ما حقنت النباتات المحولة وراثيًّا بالفيرس الأخير منفردًا (عن Grumet 1995).

هذا .. إلاّ أن المقاومة التى يوفرها جين الغلاف البروتينى لفيرس ما لا تكون دائمًا أكيدة ضد الفيروسات القريبة منه، ومن أبرز الأمثلة على ذلك فيروسا موزايك التبغ وموزايك الطماطم.

يتشابه فيرس موزايك الطماطم مع فيرس موزايك التبغ فى أن كليهما من مجموعة الـــ tobamovirus، إلاّ أنهما فيروسـان مختلفان تمامًا ويمكن التمييز بينهما على أساس خصائصهما السيرولوجية وتركيب البروتين فيهما. وعلى الرغم من أن فيرس موزايك التبغ يمكن أن يصيب الطماطم، إلاّ أن فيــرس مـوزايك الطماطم هو الأكثر شيوعًا فى هذا المحصول فى جميع أنحاء العالم. هذا .. ويمكن أن يتواجد الفيروسان معًا فى نبات الطماطم الواحد، إذ إن الإصابة بأحدهما لا يوفر حماية من الإصابة بالآخر.

وعلى الرغم من أن الفيروسين على درجة عالية من التماثل – قدرت بنحو 88% - فى تتابعات النيكليوتيدات، فإن تحويل نبات الطماطم وراثيًّا بجين الغلاف البروتينى لأحدهما لا يعطى سوى قدر ضئيل من الحماية – أو لا يوفر أى حماية – ضد الفيرس الآخر، بينما يكسب هذا التحويل قدرًا كبيرًا من الحماية ضد الفيرس الذى استخدم جين غلافة البروتين فى عملية التحويل الوراثى (Sanders وآخرون 1992).

هذا .. وإلى جنب ما سبقت الإشارة إليه من حالات فيروسات الرنا التى استخدمت فيها جينات الغلاف البروتينى فى هندسة نباتات وراثيًّا لتكون مقاومة لتلك الفيروسات .. فقد طبقت التقنية ذاتها على فيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم tomato yellow leaf curl virus – وهو فيرس ذات خيط مفرد من الدنا وينتقل عن طريق الذبابة البيضاء – وأمكن الحصول على نباتات طماطم تحتوى على جين الغلاف البروتينى للفيرس ومقاومة له (عن Kavanagh & Spillane 1995).

ويتبين من جدول (10-1) أن الحماية التى يوفرها جين الغلاف البروتينى للفيرس تكون فعَّالة – غالبًا سواء أتم انتقال الفيرس للنباتات ميكانيكيًّا، أم بواسطة النواقل vectors.

هذا ويبين جدول (10-2) أمثلة لحالات من التحول الوراثى كان الاعتماد فيها على جين الغلاف البروتينى لفيرس ما، والفيروسات التى أصبحت النباتات التى حُوِّلَت وراثيًّا مقاومة لها من جراء هذا التحول. كما يبين جدول (10-3) فاعلية الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات بالاعتماد على جين الغلاف البروتينى أيًّا كانت المجموعات التى تنتمى إليها تلك الفيروسات.

جين تكاثر الفيرس

بينما توفر عملية التحول الوراثى للنباتات باستخدام جين الغلاف البروتينى للفيروسات مقاومة ضد مدى واسع نسبيًّا من الفيروسات القريبة من بعضها، فإن المقاومة ذاتها لا تكون تامة، حيث تُظهر النباتات المحولة وراثيًّا أعراض الإصابة الفيروسية، إلاّ أن تلك الأعراض تكون متأخرة وأقل شدة عما تكون عليه فى النباتات غير المحولة، كما يمكن كسر المقاومة بإجراء الحقن بتركيزات عالية جدًّا من الفيرس، أو بالرنا الفيروسى المجرد من الغلاف البروتينى.

جدول (10-1): الحماية التى يوفرها التحول الوراثى بجين الغلاف البروتينى ضد الحقن الطبيعى بالناقلات الفيروسية، مقارنة بالوضع فى حالة الحقن الميكانيكى (عن Grumet 1995).

		الحماية ضد النقل	
الفيرس	الناقل	الميكانيكى	بالناقل Vector
PSR	نطاطات النباتات	لم تختبر (أ)	متوفرة
PLRV	المن	لم تختبر (أ)	متوفرة
TYLCV	الذبابة البيضاء	لم تختبر (أ)	متوفرة
CMV	المن	متوفرة	متوفرة
PVX	المن	متوفرة	متوفرة
PVY	المن	متوفرة	متوفرة
TRV	النيماتودا	متوفرة	غير متوفرة

أ- لا ينتقل الفيرس ميكانيكيًا.

جدول (2-10): أمثلة لحالات من التحول الوراثى كان الاعتماد فيها على جين الغلاف البروتينى لفيرس ما، وكيف أن هذا الجين أكسب النباتات مقاومة لفيروسات أخرى إلى جانب الفيرس صاحب الجين المستعمل فى عملية التحول الوراثى.

الفيرس مصدر جين		الفيروسات التى أصبحت
الغلاف البروتينى	النبات المحول وراثيًا	النباتات مقاومـــة لها
TMV	التبغ	TMV
TMV	التبغ	ToMV, TMGMV
TMV	التبغ	PVX, CMV, AlMV, SHMV
TMV	الطماطم	TMV, ToMV
AlMV	التبغ	AlMV
AlMV	التبغ	PVX, CMV
AlMV	الطماطم	AlMV
AlMV	البرسيم الحجازى	AlMV

TRV	التبغ	TRV
PEBV	التبغ	TRV
TSV	التبغ	TSV

تابع جدول (10-2).

الفيرس مصدر جين الغلاف البروتينى	النبات المحول وراثيًا	الفيروسات التى أصبحت النباتات مقاومة لها
CMV	التبغ	CMV
SMV	التبغ	PVY, TEV
BNYVV	بنجر السكر	BNYVV
PVX	التبغ	PVX
PVX	البطاطس	PVX
PVX + PVY	البطاطس	PVX, PVY
PVS	البطاطس	PVS
PLRV	البطاطس	PLRV
GCMV	التبغ	TBRV
PaRSV	التبغ	TEV
TVMV	التبغ	TVMV, TEV

وفى المقابل .. فإن مقاومة النباتات المحولة بواسطة RNA-dependent RNA polymerase (وهو المعروف باسم replicase لأنه الإنزيم الذى ينسخ الجينوم الفيروسى) تكون تامة وشبيهة بالمناعة، إلا أنها تكون – فقط – ضد السلالات المماثلة تمامًا – فى تتابعات الحامض النووى – لتلك التى حُصِلَ منها على الجين المستخدم فى التحول الوراثى (عن Miller وآخرين 1997).

جاء اكتشاف خاصية قدرة جين الـ replicase الفيروسى على إكساب النباتات المحولة وراثيًّا به مقاومة له .. جاء من تجارب صممت لاختبار ما إذا كانت الوحدة 54 kD من إنزيم الـ replicase الخاص بفيرس موزايك التبغ تلعب دورًا فى انقسام الفيرس أم لا؛ حيث كانت المفاجأة أن نباتات التبغ المحولة وراثيًّا بنسخه من الـ cDNA لهذا الجزء من جين الـ replicase كانت على درجة عالية من المقاومة لفيرس موزايك التبغ حتى عندما وصل تركيز اللقاح إلى 1000 ضعف التركيز الذى يقاومه جين الغلاف البروتينى، وحتى مع عدم القدرة على اكتشاف وجود هذا البروتين – 54kD – فى تلك النباتات.

جدول (10-3): حالات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات التى استخدمت فيها جينات الغلاف البروتينى الفيروسى حتى بدايات عام 1994 (عن Grumet 1995).

المجموعة الفيروسية	الفيرس	اسمه المختصر	النوع المحول وراثيًا
Alfalfa mosic virus group	Alfalfa mosaic virus	AlMV	التبغ – الطماطم – البرسيم الحجازى
Carlavirus	Potato virus S	PVS	البطاطس
Cucumovirus	Cucumber mosaic virus	CMV	التبغ – الخيار – القاوون
Geminivirus	Tomato yellow leaf curl virus	TYLCV	الطماطم
Ilarvirus	Tobacco streak virus	TSV	التبغ
Luteovirus	Potato leaf froll virus	PLRV	البطاطس
Nepovirus	Arabis mosaic virus	ArMV	التبغ
	Grapevine chrome mosaic virus	GCMV	التبغ

Potexvirus	Cymbidium mosaic virus	CyMV	N. benthamiana
	Potato virus X	PVX	التبغ - البطاطس
Potyvirus	Bean yellow mosaic virus	BYMV	N. benthamian
	Lettuce mosaic virus	LMV	التبغ
	Maize dwarf mosaic virus	MDMV	الذرة
	Papaya ringspot virus	PRSV	التبغ – الباباظ
	Plum pox virus	PPV	N. clevelandii
	Potato virus Y	PVY	البطاطس
	Soybean mosaic virus	SMV	التبغ
	Watermelon mosaic virus	WMV	N. benthamiana
	Zucchini yellow mosaic virus	ZYMV	N. benthamiana – القاوون – التبغ
Tenuivirus	Rice stripe virus	RSV	الأرز

Tabamovirus	Tobacco mosaic virus	TMV	التبغ – الطماطم
Tobravirus	Tabacco rattle virus	TRV	التبغ
Tospovirus	Tomato spotted wilt virus	TSWV	التبغ

وقد تبين أن البروتين 54 كيلو دالتون 54-kD protein – وليس الرنا الخاص به – هو المسئول عن تلك الحماية التى تقترب من مستوى المناعة. ويعتقد بأن تراكم هذا البروتين فى النباتات المحولة وراثيًا قد يعطل دورة تكاثر الفيرس.

وكما فى حالة التحول الوراثى باستعمال جين الغلاف البروتينى، فإن المقاومة التى يوفرها جين الـ replicase تختلف من سلالة محولة وراثيًا لأخرى، إلاّ أن المستوى العام للمقاومة التى يوفرها جين الـ replicase أعلى من تلك التى يوفرها جين الغلاف البروتينى (عن Grumet 1995).

هذا .. وتعرف – حاليًا – عدة حالات تحققت فيها المقاومة عن طريق جين الـ replicase (جدول 4-10)، منها تلك الخاصة بفيروسات: إكس البطاطس PVX، وواى البطاطس PVY، و التلون البنى المبكر للبسلة pea early browning، وموزايك الخيار CMV. ومن بين تلك الحالات ما حدث فيها التحول الوراثى بجين الـ replicase الفيروسى الكامل، منها ما استخدم فيها صورًا مقتضبة truncated أو مطفرة mutated من ذلك الجين، وذلك بتعديل أو فصل أجزاء خاصة منه (عن Kavanagh & Spillane 1995، و Grumet 1995).

ومن الأصناف التجارية التى حدث فيها التحول الوراثى بتلك التقنية صنف البطاطس Newleaf Plus الذى يحتوى على كل من: جين بروتين الانقسام replicase protein gene لفيرس التفاف أوراق البطاطس، وجين الـ Bt من البكتيريا Bacillus thuringiensis var. tenebrionis (عن Duncan وآخرين 2002).

جين حركة الفيرس

أوضحت الدراسات التى أجريت على فيرس موزايك التبغ أن حركة الفيرس تعتمد على بروتين فيروسى خاص (هو الـ 30 kD movement protein) يقوم بتعديل قطر الثقوب التى تمر منها الروابط البروتوبلازمية التى تربط الخلايا المتجاورة بعضها ببعض؛ الأمر الذى يسهل عملية انتقال الفيرس. وعندما عُدِّلَت نباتات التبغ وراثيًّا بالجين الكامل لحركة فيرس موزايك التبغ فإنها لم تكن مقاومة للفيرس، إلا أن تعديل النباتات باستعمال طراز طفرى من هذا الجين جعلها مقاومة.

جدول (10-4): الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات بالاعتماد على جينات فيروسية أخرى غير جين الغلاف البروتينى (عن Grumet 1995).

الجين (البروتين)	المجموعة الفيروسية	الفيرس	النوع النباتى المحول وراثيًّا
Replicase	Cucumovirus	CMV	التبغ
	Potexvirus	PVX	التبغ
	Potyvirus	PVY	التبغ
	Tobamovirus	TMV	التبغ
	Tobravirus	PEPV(أ)	Nicotiana benthamiana
	Tombusvirus	CyRSV(أ)	N. benthamiana

بروتين الحركة	Tobamovirus	TMV	التبغ
Protease	Potyvirus	PVY	التبغ

أ- pea early browning virus = PEBV، و cymbidium ringspot virus = CyRSV.
للتعرف على الأسماء الكاملة لباقى الفيروسات التى وردت رموزها فى الجدول .. يراجع جدول (3-10).

وعلى خلاف المقاومة التى تنتج من استعمال جين الـ replicase، فإن المقاومة التى يحدثها جين الحركة ليست على درجة عالية من التخصص؛ مما يعنى إمكان استخدام جين الحركة فى الحصول على نباتات مقاومة لعدة فيروسات (عن Kavanagh & Spillane 1995).

لقد أظهرت نباتات التبغ التى حولت وراثيًّا بجين الحـركة لفيرس brome mosaic virus .. أظهرت مقاومة ضد فيرس موزايك التبغ الذى لا يمت للفيرس الأول بصلة قرابة. كذلك أظهرت نباتات التبغ التى عدلت وراثيًّا بطفرة لجين الحركة الخاص بفيرس موزايك التبغ مقاومة ضد عدد من الفيروسات غير القريبة منه (عن Dickinson 2003).

كما أنتجت نباتات بطاطس محولة وراثيًّا تحتوى على صور طفرية من جين فيرس التفاف أوراق البطاطس ORF4، وهو الجين الذى يتحكم فى إنتاج البروتين pr17 الخاص بحركة هذا الفيرس فى النبات، وأظهرت النباتات التى حولت وراثيًّا نقصًا جوهريًّا فى أعداد هذا الفيرس فى النبات، كما كانت مقاومة – كذلك – لكل من فيرس واى البطاطس، وفيرس إكس البطاطس (Tacke وآخرون 1996).

شفرة الرنا الفيروسى العكسية

اتبعت استراتيجية شفرة الرنا العكسية antisense RNA strategy فى عمليات الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات بنقل تتابعات رنا إلى النبات تعبر عن شفرة الرنا الفيروسى العكسية، أى بنقل خيط رنا ذات تتابعات متممة للرنا الفيروسى؛ حيث يلتحم الرنا ذو الشفرة المضادة مع الرنا الرسول المقابل؛ مما يؤدى إلى منع استنساخه، وتعرف الحماية التى توفرها تلك التقنية باسم antisense mediated protection.

نجد فى النباتات العادية أن خيطًا واحدًا من الدنا – يطلق عليه اسم antisense strand – تكون تتابعاته النيكليوتيدية متممة complementary للتتابعات فى الخيط الآخر الذى يعرف باسم sense strand. أما فى تكنولوجيا الـ antisense RNA فإن جين الـ antisense يُنتج بإعكاس توجه منطقة النسخ بالنسبة للـ promotor. وبذا .. يصبح الخيط المسئول عن الشفرة الوراثية sense strand بمثابة antisense، وهو الذى يتم نسخه. ويؤدى تواجد الجين الأصلى وجين الـ antisense معًا إلى إنتاج antisense RNA، و sense RNA، وكلاهما مكمل لبعضهما البعض حيث يقترنان كـ رنا ذات خيط مزدوج؛ ومن ثم لا يتوفر رنا رسول mRNA لعملية النسخ؛ مما يؤدى إلى وقف نشاط (إسكات silencing) الجين الطبيعى (عن Chahal & Gosal 2002).

وقد كانت تلك الطريقة فعالة سواء استخدمت الشفرة المضادة لجين الغلاف البروتينى، أم لجين الـ replicase الفيروسى. ونظرًا لأن نظام الحماية يختلف فى الحالتين، فقد يكون من الممكن رفع مستوى المقاومة بنقل الشـفرة المضادة لكلا الجينين.

هذا .. إلاّ أنه فى كل من حالات فيرس موزايك الخيار، وفيرس إكس البطاطس، وفيرس موزايك التبغ لم تُحدث شفرة الرنا العكسية حماية من الإصابة إلاّ فى التركيزات المنخفضة فقط من اللقاح الفيروسى، وكانت أقل كفاءة من عملية التحول الوراثى باستعمال جين الغلاف البروتينى.

وبالمقارنة .. فإن الحماية من الإصابة بفيرس التفاف أوراق البطاطس تساوت فى كل من النباتات المحولة وراثيًّا بجين الغلاف البروتينى للفيرس أو بشفرته العكسية.

ومن مميزات التحول الوراثى بالشفرة العكسية بدلاً من شفرة الغلاف البروتينى، أن النبات لا ينتج الغلاف البروتينى للفيرس؛ وبذا .. تتوفر طاقته للنمو الطبيعى (عن Nascari & Montanelli 1997).

ويبين جدول (10-5) أمثلة لفيروسات أمكن مقاومتها بإجراء عملية التحول الوراثى بالاعتماد على الشفرة العكسية للرنا الفيروسى.

شفرة عادية – ولكن معيبة – من الرنا الفيروسى

أمكن هندسة نباتات مقاومة للفيروسات باستعمال خيوط رنا عادية (غير معكوسة، أى مُشفِرَة)، ولكنها معيبة defective، وذلك من خلال تحويرها بطريقة تجعلها غير قادرة على نقل الشفرة. ويبين جدول (10-5) أمثلة لحالات اعتمد فيها التحول الوراثى على تلك التقنية.

الرنا الفيروسى التابع وجزيئات الرنا المشوهة المعيقة لفعل الفيرس

على الرغم من بساطة تركيب الفيروسات واعتمادها الكامل على خلايا العائل فى كافة نشاطها الأيضى .. فإن مجموعات عديدة من الفيروسات يمكنها أن تكتسب تتابعات لحامض نووى يكون تابعًا لها، ويمكن اعتبارها – مجازًا – متطفلات جزيئية molecular parasites. هذه التتابعات – والتى تتضمن التوابع الفيروسية satellites viruses، والجزيئات المشوهة المعيقة لفعل الفيرس defective interfering particles (والتى تعرف باسم helper viruses) – ليست ضرورية لعمل الفيرس، ويمكنها تثبيط ظهور أعراض الإصابة، وتكاثر الفيرس ذاته.

وقد حظيت تلك المتطفلات الجزيئية باهتمام الباحثين الساعين إلى هندسة نباتات مقاومة للفيروسات. ويبين جدول (10-6) أمثلة للفيروسات التى استعملت معها تلك التقنية.

جدول (10-5): هندسة النباتات لمقاومة الفيروسات بالاعتماد على تتابعات رنا فيروسى viral-derived RNA sequences (عن Grumet 1995).

الرنا	المجموعة الفيروسية	الفيرس	النوع النباتى المحول وراثيًا
شفرة فيروسية عكسية	Cucumovirus	CMV	التبغ
	Geminivirus	TGMV(أ)	التبغ
	Luteovirus	PLRV	البطاطس
	Potexvirus	PVX	التبغ
	Potyvirus	BYMV	Nicotiana benthamiana
		PVY	التبغ
		TEV(أ)	التبغ
		ZYMV	القاوون – التبغ

	Tobamovirus	TMV	التبغ
	Tospovirus	TSWV(أ)	
شفرة غير عكسية ولكن معيبة	Potyvirus	TEV	التبغ
	Tobamovirus	TMV	التبغ
	Ttospovirus	TSWV	التبغ
	Tymovirus	TYMV(أ)	لفت الزيت

أ – TGMV = tomoto golden mosic virus، و TEV = tobacco etch virus، و TSWV = tomato spotted wilt virus، و TYMV = turnip yellow mosaic virus؛ وللأسماء الكاملة للفيروسات الأخرى التى وردت رموزها فى الجدول .. يراجع جدول (10-3).

يوجد التابع الفيروسى فى عدة مجاميع من الفيروسات التى يوجد بها الحامض النووى على صورة رنا. وهو – أى التابع – جزىء مفرد من الرنا يحتوى على نحو 300-400 نيوكليوتيدة. وقد اعتبر البعض هذه التوابع كطفيليات للفيروسات، لأنها تستفيد من آلية تكاثر الفيرس، وتغلف نفسها بالغلاف البروتينى للفيرس، ولكنها ليست ضرورية لتكاثر الفيرس ذاته. وقد جرب هذا التطبيق للهندسة الوراثية مع كل من فيروسى موزايك الخيار، وتبقع التبغ الحلقى فى التبغ، حيث أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا أعراضًا مرضية أقل شدة – مما فى غير المحولة – عندما تعرضت للإصابة بالفيرس الأصلى، بينما لم يتأثر نموها بعملية التحول الوراثى.

جدول (10-6): الهندسة الوراثية لمقاومة الفيروسات باستعمال المتطفلات الفيروسية (عن 1995 Grumet).

المتطفل الفيروسى	المجموعة الفيروسية	الفيرس	العائل المحول وراثيًا
التوابع Satellites	Cucumovirus	CMV	التبغ – الطماطم
	Nepovirus	TobRV(ب)	التبغ
الجزيئات المشوهة المعيقة(أ)	Geminivirus	ACMV(ب)	Nicotiana benthamiana
		BCTV(ب)	N. benthamiana
	Tombusvirus	CyRSV	N. benthamiana

أ – Defective interfering particles .. وهى جزيئات رنا مشوه تعيق عمل الفيرس الأصلى (helper virus).

ب – tobacco ringspot virus = TobRV، و African cassava mosaic virus = ACMV، و beet curly top virus = BCTV؛ للأسماء الكاملة لباقى الفيروسات التى وردت رموزها فى الجدول .. يراجع جدول (10-4).

وتتميز هذه الطريقة بأن تعرض النباتات المحولـة وراثيًا للإصابة بالفيرس الذى ينتمى إليه التابع يؤدى – تلقائيًا – إلى زيادة أعداد التابع فى النباتات، وزياة الوقاية التى يوفـرها ضد الفيرس. وبالمقارنة .. فإن فاعلية نقـل الجين المسئول عن تمثيل الغلاف البروتينى للفيرس إلى النبات تتناسب طرديًا مع الكمية الممثلة من هذا الغلاف فى النبات، وهو ما يتطلب وجود جرعة كبيرة من هذا الجين فى النبات المحول وراثيًا.

ومن أهم عيوب هذا التطبيق للهندسة الوراثية ما يلى:

1 – لا تتوفر التوابع فى جميع الفيروسات.

2 – لا يمكن التنبؤ دائمًا بتأثير التوابع فى النباتات المحولة وراثيًّا، فبينما هى تقلل كثيرًا من شدة الأعراض المرضية فى معظم الحالات، فإنها تزيدها فى حالات أخرى قليلة (عن Grumet 1990).

وقد وجد أن الحماية التى يوفرها الرنا التابع لفيرس موزايك الخيار كانت فعالة فى مكافحة الفيرس فى كل من حالتى الحقن بالمن وميكانيكيًّا.

أما بالنسبة للتحول الوراثى الذى يجرى باستعمال جينوم الـ helper virus، فقد أظهرت الدراسات أن المقاومة لا تظهر فى الأوراق التى تحقن بالفيرس، وإنما فى الأوراق التالية لها فى الظهور، وأن درجة الحماية لا تتوقف على تركيز الفيرس المستخدم فى الحقن، ولا ترتبط بدرجة التعبير عن تتابعات الحامض النووى (الـ helper virus) المستخدم فى التحويل الوراثى (عن Grumet 1995).

إن من أكبر مخاطر تقنية التحول الوراثى باستعمال الجينات الخاصة بالتوابع الفيروسية satellite viruses والـ helper viruses أنها لا تكون دائمًا مخفضة لأعراض الإصابات التى تحدثها الفيروسات الأصلية؛ فقد تحدث بها طفرات تجعل تأثيرها منشطًا للفيرس الأصلى ليصبح أشدَّ ضراوة. كذلك فإن الفيرس التابع لا يكون تأثيره بالضرورة واحدًا فى كل عوائله؛ فهو قد يكون مثبطًا لفعل الفيرس الأصلى فى أحد الأنواع النباتية، ومنشطًا له فى نوع آخر (عن Scholthof وآخرين 1993).

هذا .. ويبين جدول (7-10) مقارنة بين الطرق المختلفة للتحول الوراثى باستعمال جينات مختلفة ذات أصل فيروسى.

جدول (10-7): مقارنة بين الطرق الرئيسية لهندسة النباتات لمقاومة الفيروسات (عن Grumet 1990).

الطريقة	المزايا	العيوب
الغلاف البروتينى	- قابلة للتطبيق بصورة عامة - فعالة بصورة مقبولة	- تعتمد المقاومة – غالبًا – على مستوى التعبير عن الغلاف البروتينى فى النبات وشدة الإصابة
جينات السلالات الفيروسية الضعيفة	- توفر مستوى عالٍ من المقاومة	- قد تتسبب فى نقص المحصول أو جودته
	- تستمر المقاومة وتزداد ذاتيًا	- قد تطفر إلى سلالة أشد ضراوة
		- قد تتفاعل مع فيروسات أخرى؛ لتسبب أعراضًا شديدة
الكود المعكوس antisense	- قابلة للتطبيق بصورة عامة	- ليست شديدة الفاعلية
الرنا التابع	- تستمر المقاومة وتزداد ذاتيًا بعد حدوث الإصابة الفيروسية	- لا يمكن – دائمًا – التنبؤ بتأثير التابع
	- توفر مستوى عالٍ من المقاومة	- قد تطفر التوابع؛ لتسبب أعراضًا أشد

التحول الوراثى بجينات من العائل تختص بمقاومة الفيروسات

الجينات التى تشفر للإنزيمات ذات العلاقة بعملية ظهور المرض

إن أكثر مظاهر المقاومة للفيروسات فى النباتات هى الاستجابة التى تعرف باسم فرط الحساسية hypersensitivity، وهى التى يُستثار حدوثها عندما يتعرف النبات العائل على الكائن الممرض – وهو الفيرس فى حالتنا تلك – مما يؤدى إلى موت مبرمج لخلايا العائل حول الموضع الأولى للإصابة. ولقد وجد أن حادثة التعرف تلك تعتمد – فى بعض الأحيان – على جينات مفردة فى العائل. ويؤدى تعرف النبات على الكائن الممرض – بالتالى – إلى حث عدد كبير من الجينات الأخرى المرتبطة بالدفاع ضد المسببات المرضية .. حثها إلى النشاط. وبينما تعمل بعض تلك الجينات موضعيًّا فى مكان الإصابة لتتسبب فى موت الخلايا المرافق لاستجابة فرط الحساسية، فإن جينات أخرى كثيرة يظهر تأثيرها جهازيًّا، وتشترك فى تطور حالة من المقاومة – أعلى من الحالة العادية – فى أجزاء النبات، وهى التى تعرف باسم المقاومة الجهازية المكتسبة systemic acquired resistance، ومن بين أهم هذه الجينات التى تشترك فى إحداث حالة المقاومة الجهازية المكتسبة تلك التى تكون مسئولة عن إنتاج ما تعرف بالبروتينات المرتبطة بتولد أو نشوء المرض pathogensis-related proteins. ولقد أمكن التعرف على عديد من تلك البروتينات، وهى تضم ما لايقل عن عشرة بروتينات رئيسية حامضية acidic تتواجد أساسًا فى البروتوبلاست، بالإضافة إلى مجموعة من البروتينات الأساسية التى تتواجد فى الفجوات العصارية. وقد تبين أن عددًا كبيراً من هذه البروتينات يظهر بها نشاط لكل من الـ glucanase، و الـ chitinase.

وفى التبغ .. وجد أن المقاومة الجهازية المكتسبة التى تُحدثها العدوى بفيرس موزايك التبغ لا تكسب النباتات حماية ضد مزيد من لقاحات الفيرس ذاته – فقط – ولكن – كذلك – ضد فيروسات أخرى، ومسببات مرضية أخرى فطرية وبكتيرية. ونظرًا لأن المقاومة الجهازية المكتسبة، وتمثيل البروتينات المرتبطة بتولد المرض يحدثان فى آن واحد، فقد اقتُرح أن تلك البروتينات تلعب دورًا نشطًا فى عملية الدفاع. ولقد جاء أول تأييد لذلك الاستنساخ عندما لوحظ أن رش أوراق التبغ بحامض السلسيلك يحث تمثيل مجموعة من البروتينات المرتبطة بتولد المرض، وأن ظهورها يواكب تطور حدوث المقاومة الجهازية المكتسبة، هذا مع العلم بأن حامض السلسيلك يعد من النواتج الأيضية النباتية الطبيعية، ووجد أنه يلعب دورًا جوهريًّا فى تطور المقاومة الجهازية المكتسبة. ولقد تبين أن النباتات المهندسة وراثيًّا لجعلها قادرة على تحليل حامض السلسيلك الطبيعى لا تكون قادرة على تطوير مقاومة جهازية مكتسبة.

ومن المعتقد أن التعبير عن الجينات التى تشفر للبروتينات المرتبطة بتولد المرض فى النباتات هو أقصر الطرق لتقييم ما إذا كان ظهورها مجرد ارتباط بتطور المقاومة الجهازية المكتسبة، أم أنها تلعب دورًا نشطًا فى المقاومة (عن Kavanagh & Spillane 1995).

جينات المقاومة الطبيعية فى العائل

نعنى بجينات المقاومة الطبيعية فى العائل تلك التى تكون خاصة بأصناف معينة ضد فيروسات معينة، حيث يكون النوع النباتى الذى تنتمى إليه تلك الأصناف قابل للإصابة – بصورة عامة – بالفيروسات التى تقاومها تلك الأصناف، وتلك حالة تختلف عن كل من حالة فرط الحساسية التى أسلفنا بيانها، وحالة مقاومة نوع نباتى ما لجميع سلالات فيرس ما. وجدير بالذكر أن حالة المقاومة التى نعنيها هنا هى التى اعتمد عليها مربو النباتات لسنوات عديدة فى تربية أصناف مقاومة للفيروسات، وفى معظم الأحيان كانت تلك المقاومة بسيطة، بينما كانت حالات المقاومة الكمية أو التى يتحكم فيها عدد محدود من الجينات oligogenic resistance هى الاستثناء للقاعدة.

وعلى الرغم من التعرف على عديد من تلك الجينات فإنه لا يعرف عن غالبيتها شيئًا، باستثناء تحديد الموقع الكروموسومى التقريبى لبعضها؛ الأمر الذى أعاق الاستفادة منها فى عمليات التحول الوراثى.

ولقد كان الجين التبغ N أول جينات المقاومة للفيروسات التى تم عزلها لأجل الاستخدام فى عمليات التحول الوراثى. يوفر هذا الجين مقاومة لفيرس موزايك التبغ ومعظم الفيروسات الأخرى من عائلة الـ **tobamovirus**. ونظرًا لأن سلالات فيرس موزايك التبغ يمكنها إصابة أكثر من 200 نوع نباتى، بما فى ذلك معظم الباذنجانيات؛ فإنه يتبين مدى أهمية تحويل النباتات وراثيًا بهذا الجين. كانت البداية بتحويل طماطم قابلة للإصابة بفيرس موزايك التبغ بالجين N؛ مما أدى إلى إكسابها صفة المقاومة.

ومن بين الحالات القليلة التى دُرست فيها تلك الجينات على المستوى الجزيئى وجرت محاولات للاستفادة منها جين المقاومة Rx فى البطاطس، الذى يضفى حالة المقاومة القصوى **extreme resistance** – وهى حالة تقترب من المناعة **immunity** – ضد فيرس إكس البطاطس، حيث يُوقِف الجين – تمامًا – تكاثر الفيرس.

تبدأ تفاعلات حالة المقاومة القصوى عندما يبدأ البروتين المسئول عن إنتاجه الجين Rx التعرف على موقع معين من الغلاف البروتينى للفيرس؛ حيث يتوقف تكاثر الفيرس. وما أن يُستَحث الجين على إظهار نشاطه فى المقاومة فإن تلك المقاومة تكون فعالة – بذات الدرجة – فى تثبيط تكاثر فيروسات أخرى لا علاقة تربطها بفيرس إكس البطاطس. ولقد كللت بنجاح محاولات التحويل الوراثى لكل من البطاطس،و **N. benthamiana**، و **N. tobacum**، وكانت النباتات التى حولت وراثيًا تامة المقاومة (عن **Kavanagh & Spillance 1995**، و **Walsh 2000**).

جينات نباتية المصدر تشفر لبروتينات مضادة للفيروسات

توجد فئة من البولى ببتيدات تعرف باسم مضادات الفيروسات، أو البروتينات المثبطة للريبوسومات ribosome-inactivating proteins، وأمكن التعرف عليها فى عدد من الأنواع النباتية، منها حشيشة عنب الذئب أو عنب الثعلب pockeweed (وهى: Phytolacca americana)، التى أمكن التعرف فيها على ثلاثة أنواع من البروتينات المضادة للفيروسات pockweed antiviral proteins (اختصارًا: PAPs)، هى: PAP ويوجد فى الأوراق الربيعية، و PAPII ويوجد فى الأوراق الصيفية، و PAPS ويوجد فى البذور، ويرجع دورهم فى تثبيط الريبوسومات إلى قدرتهم على تحوير الرنا الريبوسومى؛ ومن ثم إحداث تعارض مع ترجمة شفرة البولى ببتيدة. وقد أوضحت الدراسات أن النشاط المضاد للفيروسات لتلك البروتينات يحدث نتيجة لدخولها فى الـ cytosol (من الحجيرات التى تكون محجوزة فيها؛ فيما يعرف باسم compartmentalization) حيث تعمل على تثبيط ريبوسومات العائل.

وقد أوضحت الدراسات - كذلك - أن عدوى النباتات بثلاثة فيروسات مختلفة - فى آن واحد - هى فيرس إكس البطاطس، وفيرس واى البطاطس، وفيرس موزايك الخيار - أن الـ PAP تسبب فى مقاومة النباتات للعدوى الميكانيكية بكل من فيرس إكس البطاطس وفيرس واى البطاطس، وأن مستوى المقاومة ارتبط إيجابيًّا بمستوى الـ PAP فى السلالات المحولة وراثيًّا، وأن السلالات التى احتوت على مستوى عالٍ من الـ PAP كانت مقاومة - كذلك - لفيرس موزايك الخيار (عن Kavanagh & Spillane 1995).

ومن الأمثلة الأخرى لحالات التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات، والتى استخدمت فيها جينات نباتية مضادة للفيروسات، ما يلى:

1 – الجين ribonuclease الذى حُصل عليه من الخميرة واستعمل فى تحويل البطاطس وراثيًّا، حيث جعلها مقاومة لفيرويد الدرنة المغزلية spindle tuber viroid.

2 – الجين β-1,3-glucanase الذى استعمل فى التحويل الوراثى لعديد من النباتات، حيث جعلها مقاومة لعديد من الفيروسات (عن Bent & Yu 1999).

التحول الوراثى بجينات من الثدييات

جينات تكوين الأجسام المضادة

إن جهاز المناعة الذى تتميز به الثدييات يوفر لها مراقبة فعالة ضد المسببات المرضية التى قد تهاجمها، بإكسابها القدرة على إنتاج أعداد كبيرة من الأجسام المضادة antibodies الخاصة بأنتيجينات معينة. ولقد توجه تفكير الباحثين إلى أن تحويل النباتات وراثيًّا بالجينات المسئولة عن تكوين تلك الأجسام المضادة ربما يفيد فى حمايتها من مختلف الإصابات المرضية.

ولقد كانت المحاولات الأولى للتعبير عن الـ monoclonal antibodies (اختصارًا: mAbs) فى النباتات واستمرار بقاء مستوى عالٍ من النشاط الرابط binding activity [للأنتيجينات] فى النباتات المحولة وراثيًّا .. كانت مخيبة للآمال، وكان مرد ذلك إلى استعمال cDNAs – للـ mAbs – التى أشـفرت لكل جزئ الجسم المضاد الطبيعى، وهو الذى تبين عدم ثباته فى الخلايا النباتية. ولقد حُلَّت تلك المشكلة بدرجة كبيرة بتطوير أجسام مضادة صغيرة mini antibodies تحتوى – فقط – على الأجزاء الفعالة الرئيسية الضرورية للتعرف على الأنتيجين والارتباط معه، والتى أظهرت قدرًا أكبر من الثبات فى الخلايا النباتية.

ولقد اتبعت تلك الطريقة فى تطوير نباتات تبغ محولة وراثيًّا على درجة عالية من المقاومة للعدوى لفيرس تبرقش وتغضن الخرشوف artichoke crinkle mottle virus، حيث احتوت على mAb ذات سلسلة واحدة single chain mAb موجهة نحو الغلاف البروتينى للفيرس، كانت هى السبب فى المقاومة التى ظهرت على صورة تأخر فى ظهور أعراض الإصابة بمقدار 5-14 يومًا بعد عدوى النباتات بتركيز من الفيرس وصل إلى 1000 ضعف الحد الأدنى للتركيز الذى يلزم لإحداث الإصابة فى النباتات العادية، وتبين أن تلك المقاومة كانت بسبب حدوث ربط binding للفيرس مع الـ mAbs (عن Kavanagh & Spillane 1995).

إنزيم الثدييات oligoadenylate synthase

تفرز الخلايا الحيوانية مركبات تعرف باسم إنترفيرونات interferons أثناء تكاثرها وازديادها عدديًّا، وذلك استجابة لمؤثرات خارجية، وخاصة الإصابات الفيروسية. ليس لهذه الأنترفيرونات – بذاتها – أى نشاط مضاد للفيروسات، ولكنها تستحث تمثيل بروتينات إضافية هى التى تقوم – مباشرة – بتثبيط تكاثر الفيرس، ومنها: $2'$-$5'$ oligoadenylate synthetase. ينشط هذا الإنزيم فى وجود رنا مزدوج يتكون أثناء تكاثر فيروسات الرنا. وما أن ينشط الإنزيم حتى يقوم بعمل بلمرة للـ ATP إلى صورة oligomeric تقوم – بدورها – بتنشيط ribonuclease معين؛ ليقوم بتحليل الرنا الفيروسى والخلوى.

وتوجد أدلة على أن بعض مكونات ذلك المسار المضاد للفيروسات توجد فى النباتات؛ مما يفيد بأن التعبير عن الـ cDNA الخاص بالـ oligoadenylate synthetase الذى يوجد بالثدييات ربما يكسب النباتات التى تحول وراثيًّا به مقاومة غير متخصصة ضد الفيروسات (عن Kavanagh & Spillance 1995).

ولقد أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين الثدييات الخاص بإنتاج الإنزيم $2'$-$5'$ oligoadenylate synthetase، الذى يعد أحد مكونات نظام الإنترفيرون الذى يعمل فى الثدييات كمضاد للفيروسات. عُزل هذا الجين من الفئران، ونقل إلى البطاطس بالاستعانة ببكتيريا الأجروباكتيرم. وقد كانت نباتات البطاطس التى عُبِّرَ فيها عن الجين – والتى حقنت بفيرس إكس البطاطس – أقل احتواء على هذا الفيرس فى كل من الأوراق والدرنات عما كان عليه الحال فى النباتات غير المحولة وراثيًّا (Truve وآخرون 1993).

كما أوضحت الدراسات أن الإنترفيرون interferon الآدمى ينشط – كذلك – ضد الفيروسات النباتية؛ فقد وفر – فى إحدى الدراسات – حماية للنباتات من الإصابة بفيرس موزايك التبغ، إلاّ أن دراسات أخرى كثيرة أوضحت عدم جدواه فى توفير تلك الحماية. وقد ترجع تلك الاختلافات إلى التركيز العالى نسبيًّا للإنترفيرون الذى استخدم فى المعاملة؛ إذ إن التركيزات المنخفضة فقط هى التى تكون نشطة فى النباتات (عن Walsh 2000).

استعراض للإنجازات فى مجال التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات

نقدم فى الجداول الأربعة التالية استعراضًا لما تم إنجازه فى مجال التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات. يظهر فى جدول (10-8) عرضًا لعدد الحالات التى استخدمت فيها مختلف جينات المقاومة للفيروسات، وبداية تطبيق كل حالة منها، وذلك حتى عام 1995. وفى جدول (10-9) نقدم قائمة بمختلف الجينات التى حُصل عليها من فيروسات معينة، والتى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة تلك الفيروسات فى عدد من الأنواع النباتية. ويقدم جدول (10-10) قائمة بعض الأنواع المحصولية التى أنتجت فيها نباتات مقاومة للفيروسات حتى بداية عام 1995. أما جدول (10-11) فتظهر به حالات التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات التى أجريت عليها اختبارات حقلية فى الولايات المتحدة حتى عام 1999.

جدول (10-8): أنواع الجينات التى استعملت فى هندسة نباتات وراثيًّا لمقاومة الفيروسات، ومصادرها حتى بداية عام 1994 (عن Grumet 1995).

نوع الجين	مصدر الجين	عام نشر أول حالة	عدد الحالات
Coat protein	فيروسى	1986	44
Satellite	فيرس تابع	1987	6
Antisense, sense defective RNAs	فيروسى	1988	15
Replicase	فيروسى	1990	8
Defective-interfering sequences	فيروسى	1990	3
Movement protein	فيروسى	1993	1
Protease	فيروسى	1993	1
Antibody	حيوانى	1993	1
Interferon-related protein	حيوانى	1993	1

جدول (10-9): جينات المقاومة للفيروسات التى استعملت فى عمليات التحول الوراثى حتى عام 1997 (عن Nascari & Montanelli 1997).

النبات	الفيرس	الجين
التبغ	Tobacco mosaic virus	Coat protein
التبغ	Tobacco ringspot virus	Satellite RNA
التبغ	Cucumber mosaic virus	Satellite RNA
التبغ	Alfalfa mosaic virus	RNA 4
التبغ – الطماطم	Alfalfa mosaic virus	Coat protein
التبغ	Cucumber mosaic virus	CP/antisense RNA
التبغ	Potato Virus X	CP/antisense RNA
الطماطم	Tobacco mosaic virus	Coat protein
الطماطم	Tomato mosaic virus	Coat protein
التبغ	Tobacco rattle virus	Coat protein

تابع جدول (10-9).

النبات	الفيرس	الجين
التبغ	Tobacco streak virus	Coat protein
البطاطس	Potato virus X	Coat protein
التبغ	Tobacco mosaic virus	Antisense RNA
التبغ	Soybean mosaic virus	Coat protein
التبغ	Tobacco mosaic virus	Nonstructural
البطاطس	Potato leaf roll virus	Coat protein
البطاطس	Potato virus Y	Coat protein
Nicotiana debneyii	Potato virus S	Coat protein
N. benthamiana	African cassava mosaic virus	Defective DNA
التبغ	Tomato spotted wilt virus	Coat protein
البرسيم الحجازى	Alfalfa mosaic virus	Coat protein

البطاطس	Potato leaf roll virus	CP/antisense RNA
التبغ	Papaya ringspot virus	Coat protein
البطاطس	Potato virus S	Coat protein
التبغ	Arabis mosaic virus	Coat protein
التبغ	Cymbidium mosaic virus	Coat protein
المشمش	Plum pox virus	Coat protein
Dendrobium	Papaya ringspot virus	Coat protein
N. benthamiana	Watemelon mosaic virus II	Coat protein
N. benthamiana	Zucchini yellow mosaic virus II	Coat protein
Nicotiana spp.	Plum pox virus	Coat protein
الطماطم	Cucumber mosaic virus	Satellite RNA

جدول (10-10): الأنواع النباتية التى أنتجت فيها نباتات مقاومة للفيروسات حتى بداية عام 1994 (عن Grumet 1995).

المحصول	عدد الحالات المنشورة	الفيروسات
التبغ	37	AlMV, ArMV, CMV, PVX, PVY, TEV, TGMV, TMV, TRV, TSV, TSWV
البطاطس	10	PLRV, PVY

تابع جدول (10-10).

المحصول	عدد الحالات المنشورة	الفيروسات
الطماطم	5	AlMV, CMV, TMV, TYLCV
الخيار	1	CMV
الكنتالوب	2	CMV, ZYMV
البرسيم الحجازى	1	AlMV

الباباظ	1	PRSV
الذرة	1	MDMV
الأرز	1	RSV
لفت الزيت	1	TYMV

جدول (10-11): حالات التحول الوراثى لمقاومة الفيروسات التى أجريت عليها اختبارات حقلية فى الولايات المتحدة، حتى عام 1999 (عن Malik 1999).

المحصول	الجين	الفيرس
البرسيم الحجازى	Coat protein	Alfalfa mosaic
الشعير	Coat protein	Barley yellow dwarf
البنجر	Coat protein	Beet necrotic yellow vein
الذرة	Coat protein	Maize chlorotic mottle
الذرة	Coat protein	Maize chlorotic dwarf
الذرة	Coat protein	Maize dwarf mosaic
الخيار	Coat protein	Cucumber mosaic

الخيار	Coat protein	Cucumber mosaic, waltermelon mosaic 2, zucchini yellow mosaic
الجلاديولس	Coat protein	Bean yellow mosaic
الخس	Nucleocapsid	Tomato spotted wilt
القاوون	Antisense coat protein	Zucchini yellow mosaic
القاوون	Coat protein	Cucumber mosaic, papaya ringspot, watermelon mosaic2, zucchini yellow
القاوون	Coat protein	Waltermelon mosaic 2, zucchini yellow mosaic
الباباظ	Coat protein	Papaya ringspot

تابع جدول (10-11).

المحصول	الجين	الفيرس
الفول السودانى	Coat protein	Tomato spotted wilt
الفول السودانى	Nucleocapsid	Tomato spotted wilt
البطاطس	Coat protein	Bean yellow mosaic
البطاطس	Antisense coat protein	Potato leaf roll
البطاطس	Coat protein	Potato leaf roll
البطاطس	Coat protein	X Potato virus
البطاطس	Coat protein	Potato virus Y
البطاطس	Antisense coat protein	Potato virus Y
البطاطس	Coat protein	Tobacco vein mottling
البطاطس	Coat protein	Barley yellow dwarf
البطاطس	Coat protein	Tobacco rattle

Tobacco rattle	Antisense coat protein	البطاطس
Barley yellow dwarf	17 Kda	البطاطس
Potato leaf roll	17 Kda	البطاطس
Potato leaf roll	VPg	البطاطس
Potato leaf roll	Replicase	البطاطس
Potato leaf roll	Protease	البطاطس
Tobacco vein mottling	Coat protein	البطاطس
Potato virus X, potato virus Y	Coat protein	البطاطس
Porato Virus X, potato virus Y, potato leaf rool	Coat protein	البطاطس
Potatc virus Y, potato leaf rool	Coat protein	البطاطس
Papaya ringspot	Coat protein	البرقوق
Soybean mosaic	Coat protein	فول الصويا

الكوسة	Coat protein	Papaya ringspot
الكوسة	Coat protein	Cucumber mosaic
الكوسة	Coat protein	Cucumber mosaic, papaya ringspot
الكوسة	Coat protein	Watermelon mosaic 2, zucchini yellow mosaic
الكوسة	Coat protein	Cucumber mosaic papaya ringspot watermelon mosaic2, zucchini yellow mosaic viruses

تابع جدول (10-11).

المحصول	الجين	الفيرس
التبغ	**Antisense coat protein**	**Tobacco etch**
التبغ	**Coat protein**	**Tobacco etch**
التبغ	**Coat protein**	**Potato virus Y**
التبغ	**Coat protein**	**Alfalfa mosaic**
التبغ	**Coat protein**	**Beet curly top**
التبغ	**Coat protein**	**Tobacco vein mottling**
التبغ	**Cylindrical inclusion**	**Tobacco vein mottling**
التبغ	**Helper component**	**Tobacco vein mottling**
الطماطم	**Nucleocapsid**	**Tomato spotted wilt**
الطماطم	**CBI**	**Beet curly top**
الطماطم	**Coat protein**	**Tomato yellow leaf curl**
الطماطم	**Coat protein**	**Tomato mosaic**
الطماطم	**Coat protein**	**Cucumber mosaic**
الطماطم	**Replicase**	**Tobacco mosaic**

Watermelon mosaic 2, zucchini yellow mosaic	Coat protein	البطيخ

الفصل الحادى عشر

تطبيقات الهندسة الوراثية فى مجال التربية لمقاومة الفطريـــــات والبكتيريا والنيماتودا

تتنوع كثيراً مصادر الجينات التى تستعمل فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية فى النباتات، كما تتنوع – بالتالى – الآلية التى تعمل بها تلك الجينات.

استراتيجيات الهندسة الوراثية لمقاومة الفطريات والبكتيريا

أخذت جهود الهندسة الوراثية لأجل إنتاج نباتات مقاومة للأمراض خمسة مسارات، كما يلى:

1 - التعبير عن جينات تعد منتجاتها سامة بصورة مباشرة للمسبب المرضى، أو أنها تقلل من نموه، وهى التى تتضمن البروتينات ذات العلاقة بالتطفل المرضى pathogensis- related proteins (اختصارًا: PR proteins)، مثل: الإنزيمات المحللة hydrolytic enzymes (إنزيمات الشيتنيز chitinases، والجلوكانيز glucanases)، والبروتينات المضادة للفطريات antifungal proteins (الـ osmotin وشبيهات الـ thaumatin)، والبيبتيدات المضادة للميكروبات antimicrobial peptides (الـ thionins، والـ defensins، والـ lectins)، والبروتينات المثبطة لنشاط الريبوسومات ribosme-inactivating proteins، والفيتوألاكسينات phytoalexins.

لقد وصفت البروتينات ذات العلاقة بالتطفل الممرض فى عام 1970 على أنها مكونات لتفاعل فرط الحساسية فى أوراق التبغ التى تتعرض لفيرس موزايك التبغ؛ هذا إلاّ أن تلك البروتينات تتضمن حاليًّا كل البروتينات النباتية التى يُستحَث إنتاجها فى أى حالة مرضية أو ظروف شدَّ أخرى.

وتقسم البروتينات ذات العلاقة بالتطفل الممرض إلى عائلات حسب تركيبها الأولى وعلاقاتها السيرولوجية ونشاطها الإنزيمى والبيولوجى. وفى بداية محاولات التقسيم تضمن التقسيم خمس عائلات على أساس نوعيات البروتينات التى أمكن تحديدها فى التبغ، ولكن ظهرت بعد ذلك بروتينات لم يمكن ضمها إلى أى من تلك العائلات الخمس (جداول 11-1 إلى 11-5).

ولقد أظهرت البروتينات التى تنتمى إلى العائلات الخمس (PR-1 إلى PR-5) أنشطة مضادة للفطريات، وتميزت بروتينات كل عائلة منها بما يلى:

أ - جميع بروتينات العائلة PR-1 ذات وزن جزيئى منخفض (15-17 كيلودالتون)، وليس لها آلية معروفة لطريقة عملها.

ب - تتضمن عائلة بروتينات PR-2 ثلاثة أقسام مميزة من الـ β-1, 3-glucanases تختلف كثيراً فى مدى ألفتها مع مركبات الـ β-1, 3-glucans والمركبات الأخرى.

جـ - تعد بروتينات الـ PR-3 - أساسًا - من الـ chitinases، مع إظهار بعضها لـ lyzozyme activities.

د – تعتبر بروتينات العائلة PR-4 ذات وزن جزيئى منخفض هى الأخرى، وتتشابه مع بروتين البطاطس win.

هـ - ليس لبروتينات العائلة PR-5 آلية محددة لوظيفتها البيولوجية، ولكنها تقترب فى تركيبها من البروتين الحلو: ثوماتين thaumatin (عن Yun وآخرين 1997).

جدول (11-1): التراكيب البنائية الغالبة لبروتينات بعض جينات المقاومة للأمراض التى أمكن عزلها (عن Wenzel 1998).

المجموعة	البروتين	العائل/المسبب المرضى	التركيب
I	PTO	الطماطم / Pseudomonas	Intracellular serine/threonine kinase membrane bound
	PTI1	الطماطم / Pseudomonas	Serine/threonine kinase phosphorylated by PTO, interacting with PTO
IIa	RPS2	Pseudomonas syringa/Arabidopsis	Intracellular protein with leucine zipper, nucleotide binding site, leucine-rich-repeats
	RPM1	Pseudomonas syringae/Arabidopsis	
	PRF		
IIb	N	التبغ / TMV	Intracellular protein 1L-1R homology, nucleotide binding site
	L2, L6, L10	الكتان/ Cochliobolus carbonum	leucine-rich repeats

	RPP5	Peronospora parasitica/Arabidopsis	
	RPP14		
III	Cf-2	الطماطم / Cladosporium fulvum	Transmembrane proteins with extracellular leucine rich repeats
	Cf-4		
	Cf-5		
	Cf-9	الطماطم / Fusarium oxysporum	
	I2		
IV	Xa21	الأرز / Xanthomonas oryzae	Transmembrane protein with intracellular kinase and extracellular leucine-rich repeat
V	Mlo	الشعير / Erysiphe graminis	Transmembrane proteins nuclear localized

جدول (11-2): أمثلة لحالات تحول وراثي نباتي لمقاومة الفطريات استخدم فيها جينات نباتية تشفر للبروتينات المضادة للفطريات (عن Yun وآخرين 1997).

البروتين المُعبَّر عنه (مصدر الجين)		النبات المحول وراثيًا	الفطر	التأثير
PR-1a	(التبغ)	التبغ	Peronospora tabacina	زيادة القدرة على تحمل الإصابة
Glucanase	(فول الصويا)	التبغ	Phytophthora parasitica	تأخير تطور أعراض الإصابة
Chitinase	(الفاصوليا)	التبغ ولفت الزيت	Rhizoctonia solani	تأخير تطور أعراض الإصابة

تابع جدول (11-2):

البروتين المُعبَّر عنه (مصدر الجين)		**النبات المحول وراثيًا**	**الفطر**	**التأثير**
Chitinase	**(الأرز)**	**الأرز**	**Rhizoctonia solani**	**زيادة القدرة على تحمل الإصابة**
Chitinase	**الأرز**	**التبغ**	**Cercospora nicotianae**	**زيادة القدرة على تحمل الإصابة**
Glucanase	**(البرسيم الحجازى)**	**التبغ**	**Rhizoctonia solani**	**زيادة القدرة على تحمل الإصابة**
Chitinase	**(التبغ)**	**الطماطم**	**Fusarium oxysporum**	**زيادة القدرة على تحمل الإصابة**
			Rhizoctonia solani	**خفض إصابة الثمار بعد الحصاد**
			Fusarium oxysporum	**زيادة القدرة على تحمل الإصابة**
Glucanase	**(التبغ)**	**البطاطس**	**Phytophthora infestans**	**تأخير تطور أعراض الإصابة**

Osmotin	(التبغ)	الطماطم	Botrytis cinerea	خفض إصابة الثمار بعد الحصاد
PGIP	(الكمثرى)	التبغ		
RIP	(الشعير)	التبغ	Rhizoctonia solani	زيادة القدرة على تحمل الإصابة
RIP/chinase	(الشعير)	التبغ	Rhizoctonia solani	زيادة القدرة على تحمل الإصابة
Glucanase/chitinase	(الشعير)			
Rs-AFP2	(الفجل)	التبغ	Alternaria longipes	زيادة القدرة على تحمل الإصابة

جدول (3-11): نشاط الـ PR proteins المضاد للفطريات خارج العائل (في البيئات الصناعية in vitro) (عن Yun وآخرين 1997).

البروتين (النبات مصدر البروتين)		الفطر	التأثير
PR-1a	(التبغ)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
PR-1b	(التبغ)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
PR-1c	(التبغ)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم

PR-1 basic	(التبغ)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
P14a	(الطماطم)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
P14b	(الطماطم)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
P14c	(الطماطم)	Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
Glucanase	(البسلة)	Fusarium solani	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(التفاح)	Trichoderma hamatum	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
Tobacco	(القمح)	Phycomyces blakesleeanus	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم

تابع جدول (11-3):

البروتين (النبات مصدر البروتين)		الفطر	التأثير
Chitinase	(Arabidopsis)	**Trichoderma reesei**	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(الشعير)	**Phycomyces blakesleeanus**	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma reesei	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma harzianum	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma viride	تثبيط نمو الميسليوم
		Rhizoctonia solani	تثبيط نمو الميسليوم
		Fusarium culmorum	تثبيط نمو الميسليوم
		Fusarium graminearum	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(Castanea sativia)	**Trichoderma viride**	تثبيط نمو الميسليوم

Chitinase	(الذرة)	Phycomyces blakesleeanus	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma reesei	تثبيط نمو الميسليوم
		Fusarium oxysporum	تثبيط نمو الميسليوم
		Alternaria sloani	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma reesei	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(البسلة)	Trichoderma viride	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(التبغ)	Trichoderma viride	تثبيط نمو الميسليوم
		Alternaria radicina	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma viride	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(القمح)	Phycomyces blakesleeanus	تثبيط نمو الميسليوم

		Trichoderma reesei	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase	(البسلة)	Fusarium solani	تثبيط نمو الميسليوم
+ glucanase	(البسلة)	Ascochyta pisi	تثبيط نمو الميسليوم
		Penicillium digitatum	تثبيط نمو الميسليوم
		Aspergillus niger	تثبيط نمو الميسليوم
		Tielaviopsis basicola	تثبيط نمو الميسليوم
		Athelia bombacina	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma viride	تثبيط نمو الميسليوم
Chitinase + Glucanase	(التبغ)	Fusarium solani	تثبيط نمو الميسليوم
PR-4	(التبغ)	Trichoderma viride	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Fusarium solani	تثبيط نمو الميسليوم

تابع جدول (3-11):

البروتين (النبات مصدر البروتين)		الفطر	التأثير
PR-4 + chitinase	(التبغ)	**Fusarium solani**	تثبيط نمو الميسليوم
PR-4	(التبغ)	**Fusarium solani**	تثبيط إنبات الجراثيم
+ glucanase	(التبغ)	**Alternaria radicina**	تثبيط نمو الميسليوم
AP 24	(الطماطم)	**Phytophthora infestans**	تثبيط إنبات الجراثيم
BP-R	(الشعير)	**Candida albicans**	تثبيط إنبات الجراثيم
		Trichoderma viride	تثبيط إنبات الجراثيم
		Fusarium oxysporum	تثبيط إنبات الجراثيم
BP-S	(الشعير)	**Candida albicans**	تثبيط إنبات الجراثيم
		Trichoderma viride	تثبيط إنبات الجراثيم

		Fusarium oxysporum	تثبيط إنبات الجراثيم
PP-S	(التبغ)	Cercorpora beticola	تثبيط نمو الميسليوم
Osmotin	(التبغ)	Alternaria solani	تثبيط نمو الميسليوم
		Bipolaris maydis	تثبيط نمو الميسليوم
		Bipolaris zeicola	تثبيط نمو الميسليوم
		Botrytis cinerea	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Cladosporium cucumerinum	تثبيط نمو الميسليوم
		Colletotrichum laginarium	تثبيط نمو الميسليوم
		Dipoldia maydis	تثبيط نمو الميسليوم
		Fusarium graminearum	تثبيط نمو الميسليوم

		Fusarium roseum "Sambucinum"	تثبيط نمو الميسليوم
		Phytophthora infestans	تثبيط نمو الميسليوم
		Phytophthora parasitica var. nicotiana	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Sclerotinia sclerotiorum	تثبيط نمو الميسليوم
		Trichoderma longibrachiatum	تثبيط نمو الميسليوم
		Fusarium oxysporum f. sp. dianthi	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم

تابع جدول (11-3):

البروتين (النبات مصدر البروتين		الفطر	التأثير
		Verticillium dahiae	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Phytophthora infestans	تثبيط إنبات الجراثيم
		Candida albicans	تثبيط إنبات الجراثيم
		Neurospora crassa	تثبيط إنبات الجراثيم
		Trichoderma reesei	تثبيط إنبات الجراثيم
P 23	(الطماطم)	**Trichothecium roseum**	تثبيط نمو الميسليوم
		Colletorichum coccodes	تثبيط نمو الميسليوم
		Phytophthora citrophthora	تثبيط نمو الميسليوم

		Fusarium oxysporum	تثبيط نمو الميسليوم
		f. sp. lycopersici	
Trimatin	(القمح)	**Candida albicans**	تثبيط إنبات الجراثيم
		Trichoderma reesei	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
		Nuerospora crassa	تثبيط إنبات الجراثيم ونمو الميسليوم
Zeamatin	(الذرة)	**Candida albicans**	تثبيط إنبات الجراثيم
		Trichoderma reesei	تثبيط إنبات الجراثيم
		Nuerospora crassa	تثبيط إنبات الجراثيم

جدول (4-11): جينات المقاومة التى تم عزلها مقسمة حسب نوع البروتين الذى تُشفر له (عن Jones 2000).

البروتين	العائل	المسبب المرضى	جين المقاومة
TIR-NBS-LRR	Tobacco	Tobacco mosaic virus	N
	Flax	Melampsora lini	L6, M
	Arabidopsis	Pseudomonas syringae	RPS4
		pv. tomato	
		Peronospora parasitica	RPP1, RPP5,
			RPP10, RPP14
LZ-NBS-LRR	Tomato	P. s. pv. tomato	Prf
		Melodogyne incognita	Mi
		Macrosiphon euphorbiae	Meu1
	Potato	Potato virus X	Rx

تابع جدول (11-4):

البروتين	العائل	المسبب المرضى	جين المقاومة
	Arabidopsis	P. s. pv. tomato	RPS2, RPS5
		P. s. pv. maculicola	RPM1
		Peronospora parasitica	RPP8
NBS-LRR	Tomato	Fusarium oxysporum	I2
		pv. lycopersici	
	Lettuce	Bremia lactuca	Dm3
	Wheat	Heterodera avenae	Cre3
	Rice	Xanthomonas oryzae	Xa1
		pv. oryzae	
		Magnaporthe grisea	Pi-b, Pita
	Maize	Puccinia sorghi	Rp1-D
LRR-TM	Tomato	Cladosporium fulvum	Cf-2, Cf-4
			Cf-5, Cf-9
LRR-TM-PK	Rice	Xanthomonas oryzae pv. oryzae	Xa21
PK	Tomato	P. s. pv. tomato	Pto
Novel	Sugar beet	Heterodera schachtii	Hs1pro-1

TIR: Tool and interleukin-1 receptor homology.	TM: transmembrane domain.
NBS: nucleotide binding site.	PK: serine/threonine protein kinase.
LRR: leucine-rich repeat.	LZ: leucine zipper.

2 - التعبير عن جينات تؤدى منتجاتها إلى تحطيم أو تحييد أحد مكونات المسبب المرضى التى تمكنه من إصابة النبات، مثل تثبيط إنزيمات: الـ polygalacturonase، والـ lipase.

3 - التعبير عن جينات يمكن لمنتجاتها تحفيز الدفاعات التركيبية فى النبات، مثل زيادة مستويات الـ peroxidase، واللجنين lignin.

4 - التعبير عن جينات تعد منتاجتها بمثابة إشارات لتنظيم الدفاع النباتى، مثل المستحثات elicitors، وفوق أكسيد الأيدروجين hydrogen peroxide، وحامض السلسيلك salicylic acid، والإثيلين ethylene.

5 – التعبير من جينات مقاومة R genes يكون لمنتجاتها دورًا فى تفاعلات الـ R/Avr وفرط الحساسية hypersensitivity (عن Punja 2004).

جدول (11-5) (2 صفحة عرضية)

جدول (11-5): طرز جينات المقاومة التى أمكن عزلها (عن Takken & Joosten 2000).

النوع النباتى	جين المقاومة	الموقع[أ]	الفئة[ب]	المسبب المرضى	الجين المقابل (فى المسبب المرضى) لجين المقاومة (فى العائل)
الطماطم	Prf	I	LZ-NBS-LRR	Pseudomonas syringae pv. tomato	AvrPto
Arabidopsis	RPS2	I	LZ-NBS-LRR	Pseudomonas syringae pv. tomato	AvrRpt2
Arabidopsis	RPM1	I	LZ-NBS-LRR	Pseudomonas syringae pv. maculicola	AvrRpm1, avrB
Arabidopsis	RPS5	I	LZ-NBS-LRR	Pseudomonas syringae DC3000	AvrPphB
Arabidopsis	RPP8	I	LZ-NBS-LRR	Peronospora parasitica	AvrRpp8
الطماطم	Mi	I	LZ-NBS-LRR	Meloidogyne incognita and	
				Macrosiphum euphorbia	
الطماطم	I2c	I	NBS-LRR	Fusarium oxysporum	
الطماطم	I2	I	NBS-LRR	Fusarium oxysporum	
الأرز	Xa1	I	NBS-LRR	Xanthomonas oryzae pv. oryzae	
الأرز	Pib	I	NBS-LRR	Magnaporthe grisea	
البطاطس	Rx	I	NBS-LRR	Potato virus X	Coat protein
البطاطس	Gpa2	I	NBS-LRR	Globodera rostochiensis	
القمح	Cre3	I	NBS-LRR	Heterodera avenae	
الفلفل	Bs2	I	NBS-LRR	Xanthomonas campestris	AvrBs2
الذرة	Rp1-D	I	NBS-LRR	Puccinia sorghi	
الأرز	Pi-ta	I	NBS-LRR	Magnaporthe grisea	AvrPITA
الشعير	Mla	I	NBS-LRR	Erysiphe graminis	
التبغ	N	I	TIR-NBS-LRR	Tobacco mosaic virus	Replicase
Arabidopsis	RPP1, 10, 14	I	TIR-NBS-LRR	Peronospora parasitica	
الكتان	$L^{6}L^{1-12}$	I	TIR-NBS-LRR	Melampsora lini	

تابع جدول (11-5):

النوع النباتى	جين المقاومة	الموقع[أ]	الفئة[ب]	المسبب المرضى	الجين المقابل (فى المسبب المرضى) لجين المقاومة (فى العائل)
الكتان	M	I	TIR-NBS-LRR	Melampsora lini	
Arabidopsis	RPP5	I	TIR-NBS-LRR	Peronospora parasitica	
Arabidopsis	RPS4	I	TIR-NBS-LRR	Pseudomonas syringae pv. pisi	AvrRps4
الأرز	Xa21	E	LRR-TM-PK	Xanthomonas oryzae pv. oryzae	
الطماطم	Cf-2	E	LRR-TM	Cladosporium fulvum	Avr2
الطماطم	Cf-4	E	LRR-TM	Cladosporium fulvum	Avr4
الطماطم	Hcr9-4E	E	LRR-TM	Cladosporium fulvum	Avr4E
الطماطم	Cf-5	E	LRR-TM	Cladosporium fulvum	Avr5
الطماطم	Cf-9	E	LRR-TM	Cladosporium fulvum	Avr9
بنجر السكر	HS1^{pro-1}	E	LRR-TM	Heterodera schachtii	

أ – الموقع المتوقع للبروتين: I = داخل الخلية intracellular، و E = خارج الخلية extracellular.
ب – فئة البروتين مقسمًا حسب تركيبه المميز structural domain.

TM: transmembrane region

NBS: nucleotide binding site

TIR: Tool and interleukin-1 receptor domain

LRR: leucine-rich repeat

PK: protein kinase domain

الاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية فى عمليات التحول الوراثى

إن الاعتماد على جينات المقاومة الطبيعية التى تتوفر فى شتى الأنواع النباتية ضد مختلف المسببات المرضية الفطرية والبكتيرية - والتى يمكن تحديد مواقعها الكروموسومية باستخدام مجسات الدنا (جدولا 11-6، و 11-7) - يعد طريقة مؤكدة – غالبًا – لتحقيق المقاومة لتلك المسببات المرضية فى الأنواع النباتية المستهدفة بعملية التحول الوراثى، ولكن يتعين – بطبيعة الحال – عزل تلك الجينات أولاً حتى يمكن نقلها من نوع نباتى لآخر بعيد عنه.

وتظهر فى جداول (11-8) إلى (11-10) قوائم بعدد من أهم جينات المقاومة الطبيعية التى استخدمت أو تستخدم فى عمليات التحول الوراثى.

جدول (6-11): قائمة جزيئية بنباتات ذوات الفلقة الواحدة التى يتوفر فيها نوعيات مختلفة من المجسَّات لسبر دنا المقاومة لبعض الأمراض (عن Wenzel 1998).

العائل	المسبب المرضى	عدد الآليلات التى تم سبرها	التقنية التى استخدمت
الشعير	Erysiphe graminis	10	NIL, RFLP, DH,
		QTL	AFLP
	Puccinia gramminis	2	DH, BSA, RFLP
	Puccinia hordei	1	BSA, RAPD
	Puccinia striiformis	QTL	RFLP
	Rhynchosporium secalis	4	DH, NIL, RFLP
		QTL	DH, RFLP
	Pyrenophora teres	1	DH, RFLP
		QTL	DH, RFLP
	Cochliobolus sativus	QTL(1)	RFLP
	Typhula incarnate	1	RFLP
	Pyrenophora graminea	QTL	RFLP
	Barley yellow dwarf virus	1	RFLP
	Barley stripe mosaic virus	1	DH-RFLP
	Barley yellow mosaic virus	7	DH, RFLP, RAPD
	Heterodera avenae	1	RFLP
الذرة	Maize dwarf mosaic virus	2	RFLP
	Bipolaris maydis	1	RFLP

تابع جدول (11-6):

العائل	المسبب المرضى	عدد الآليلات التى تم سبرها	التقنية التى استخدمت
	Puccinia sorghi	**1**	**NIL,RFLP**
	Cercospora zeae-maydis	**QTL**	**RFLP**
	Collerotrichum graminicola	**QTL**	**RFLP**
	Helminthosporium trucicum	**1**	**NIL,RFLP**
الشوفان	**Puccinia coronata**	**1**	**BSA, RAPD**
	Puccinia graminis	**1**	**NIL,RAPD**
الأرز	**Orseolia oryzae**	**1**	**RIL,BSA, RFLP, RAPD**
	Pyricularia oryzae	**3**	**NIL, RFLP**
	Pyricularia grisea	**2**	**NIL, RFLP**
	Rice tungro virus	**1**	**RFLP, RAPD**
	Xanthomonas oryzae	**6**	**NIL**
السورجم	**Sporoisorium reilianum**	**1**	**RFLP, RAPD**

القمح	Heterodera avenae	2	BSA, NIL, RFLP, RAPD
	Mayetiola destructor	11	RFLP
	Puccinia recondita	3	RFLP, RAPD, STS
	Puccinia graminis	1	RFLP
	Erysiphe graminis	8	NIL,RFLP
	Wheat streak mosaic virus	1	STS, RAPD

جدول (11-7): قائمة جزئية بنباتات ذوات الفلقتين التى يتوفر فيها نوعيات مختلفة من المجسَّات لسبر دنا المقاومة لبعض الأمراض (عن Wenzel 1998).

العائل	المسبب المرضى	عدد الآليلات التى تم سبرها	التقنية التى استخدمت
Arabidopsis	Pseudomonas syringae	2	Tagging, RFLP
	Peronospora parasitica	5	RAPD, STS
الفاصوليا	Colletrochum lindemuthianum	1	NIL, RFLP, SCAR, RAPD
	Common bean mosaic virus	1	NIL, RAPD
	Uromyces appendiculatus	3	NIL, RAPD
الخيار	Cladosporium cucumerinum	1	RFLP
	Pseudoperonospora cubensis	1	RFLP
الكتان	Cochliobolus carbonum	3	Tagging
الخس	Bremia lactuca	19	BSA, STS, RAPD, RFLP

تابع جدول (11-7):

العائل	المسبب المرضى	عدد الآليلات التى تم سبرها	التقنية التى استخدمت
	Plasmopara lactucae	1	RAPD
	Turnip mosaic virus	1	BSA, RAPD
البسلة	Erysiphe pisi	2	RIL, RFLP, RAPD, SCAR
	Fusarium oxysproum	1	RFLP, Microsatellite
	Pea mosaic virus	1	RFLP, Microsatellite
	Seed-borne mosaic virus	1	RFLP, RAPD
البطاطس	Globodera rostochiensis	3	NIL. RFLP, RAPD, AFLP
	Phytophthora infestans	2	DH, BSA, RFLP, AFLP
			QTL, RFLP
	Potato virus X	2	RFLP
	Potato virus Y	1	RFLP
لفت الزيت	Plasmodiophora brassica	1	RFLP, AFLP
فول الصويا	Heterodera glycines	1	RIL, RFLP

NIL, RFLP	**3**	**Phytophthora megasperma**	
Microsatellite, RFLP	**1**	**Soybean mosaic virus**	
RFLP	**1**	**Rizomania**	**بنجر السكر**
RFLP, RAPD	**3**	**Heterodera schachtii**	
RAPD	**1**	**Beet necrotic yellow vein virus**	
NIL, BSA, RFLP, AFLP	**6**	**Cladiosporium fulvum**	**الطماطم**
NIL, RFLP	**3**	**Fusarium oxysporum**	
RFLP	**1**	**Leveillula taurica**	
RFLP, RAPD, STS	**1**	**Macrosiphum euphorbiae**	
NIL, RFLP, RAPD	**2**	**Meliodogyne incognita**	
BSA, RFLP, RAPD	**1**	**Oidium lycopersicon**	
NIL, RAPD	**1**	**Verticillium dahliae**	
RFLP	**1**	**Potato virus X**	
NIL, RFLP, RAPD	**1**	**Tomato spotted wild virus**	
RFLP	**1**	**Tomato mosaic virus**	
RFLP	**1**	**Tomato yellow leaf curl virus**	

جدول (11-8): بعض جينات المقاومة للأمراض التى تم عزلها لأغراض الهندسة الوراثية (عن Basandari & Basandari 2000).

الجين المعزول	النبات المعزول منه الجين	المسبب المرضى الذى يقاومـــــــــه الجين المعزول (وسلالته أو سلالاته)
Hm 1	الذرة	Helminthosporium maydis (race 1)
Pto	الطماطم	Pesudomonas syringae pv. tomato (avr Pto)
RPS2	Arabidopsis	Pesudomonas syringae pv. tomato (avrRpt2)
RPM1	Arabidopsis	Pesudomonas syringae pv. macullcola (avrRpm1/avrB)
I2	الطماطم	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici
N	التبغ	Tobacco Mosaic Virus
L5M	الكتان	Melampsora lini (AL5, AM)
RPP5	Arabidopsis	Peronospora parasitica
Cf-9	الطماطم	Cladosporium fulvum
Cf-4 Cf-2 Cf-5		(avr8. Avr2, Avr4 Avr5)
Xa-21	الأرز	Xanthomonas oryzae pv. oryzae (all races)

جدول (11-9): جينات المقاومة التى أمكن عزلها بتقنيات الدنا حتى عام 2000 (عن Hulbert وآخرين 2001).

النوع المقاوم	المسبب المرضى أو الآفة	جين المقاومة	أهو موقع معقد ؟(أ)	هل نقلت المقاومة من نوع برى ؟
الكتان	Melampsora lini	L	لا	لا
		M	نعم	لا
التبغ	TMV	N	نعم	نعم
الكتان	Melampsora lini	P	نعم	لا
Arabidopsis	Peronospora	RPP1	نعم	لا
		RPP5	نعم	لا
	Pseudomonas	RPS4	لا	لا
الفلفل	Xanthomonas	Bs2	نعم	نعم
الخس	Bremia	Dm3	نعم	لا
البطاطس	Globodera	Gpa2	نعم	نعم
	PVX	Rx1	نعم	نعم
الطماطم	Fusarium	I2	نعم	نعم
	Meloidogyne	Mi	نعم	نعم
	Macrosiphum	Mi	نعم	نعم

تابع جدول (11-9):

النوع المقاوم	المسبب المرضى أو الآفة	جين المقاومة	أهو موقع معقد ؟(أ)	هل نقلت المقاومة من نوع برى ؟
الشعير	Blumeria	Mla	نعم	لا
الأرز	Magnaporthe	Pib	نعم	لا
		Pib-ta	لا	لا
الطماطم	Pseudomonas	Prf(ب)	نعم	نعم
الذرة	Puccinia	Rp1	نعم	لا
Arabidopsis	Pseudomonas	RPM1	لا	لا
	Peronospora	RPP8	نعم	لا
	TCV	HRT	نعم	لا
	Peronospora	RPP13	لا	لا
	Pseudomonas	RPS2	لا	لا
		RPS5	لا	لا
البطاطس	PVX	Rx2	نعم	نعم
الطماطم	Tospovirus	Sw-5	نعم	نعم

الأرز	Xanthomonas	Xa1	لا	لا
الطماطم	Cladosporium	Cf-2/5	نعم	نعم
		Cf-4/9	نعم	نعم
	Pseudomonas	Pto	نعم	نعم
الأرز	Xanthomonas	Xa21	نعم	نعم
البنجر	Heterodera	HS1pro-1	لا	نعم
Arabidopsis	Erisyphe	Rpw8	نعم	لا
الشعير	Blumeria	mlo	لا	لا
الذرة	Cochliobolus	Hm1	لا	لا

أ – الموقع المعقد complex locus يعنى أن الجين ينتمى إلى عائلة شديدة الارتباط من الجينات المتشابهة.

ب – يعد Prf ضروريًا لفاعلية الجين Pto لمقاومة سلالات Pseudomonas syringae pv. tomato الحاملة للجين avrPto.

جدول (10-11): قائمة بعدد من أهم جينات المقاومة الطبيعية للمسببات المرضية التى أمكن عزلها لأجل استخدامها فى عمليات التحول الوراثى (عن 2003 Dickinson).

المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	النبات الحامل للجين	الجين المنتج للبروتين	طبيعة البروتين المسئول عن المقاومة(أ)	فئة البروتين المسئول عن المقاومة
Melampsora lini (fungus)	الكتان	L	TIR-NBS-LRR	1
Melampsora lini (fungus)	الكتان	M		
Melampsora lini (fungus)	الكتان	P		
Tobacco mosaic virus	التبغ	N		
Peronospora parasitica (oomycete)	Arabidopsis	RPP1		

		RPP5	Arabidopsis	Peronospora parasitica (oomycete)
		RPS4	Arabidopsis	Pseudomonas syringae (bacterium)
	CC-NBS-LRR	Prf	الطماطم	Pseudomonas syringae (bacterium)
		Mi	الطماطم	Melodogyne incognita (nematode)
		Gpa2/Rx1	البطاطس	Globodera (nematode) & Potato virus X
		RPS2	Arabidopsis	Pseudomonas syringae (bacterium)
		RPS5	Arabidopsis	Pseudomonas syringae (bacterium)
		RPM1	Arabidopsis	Pseudomonas syringae (bacterium)

		RPP8/ HRT	Arabidopsis	Peronospora & Turnip crinkle virus
	NBS-LRR	Bs2	الفلفل	Xanthomonas campestris (bacterium)
		Dm3	الخس	Bremia lactuca (oomycete)
		I2	الطماطم	Fusarium oxysporum (fungus)
		Cre3	القمح	Heterodera avenae (nematode)
		Xa1	الأرز	Xanthomonas oryzae (bacterium)
		Pib	الأرز	Magnaporthe grisea (fungus)
		Pi-ta	الأرز	Magnaporthe grisea (fungus)
		Rp1	الذرة	Puccinia sorghi (fungus)
		Mla	الشعير	Blumeria graminis (fungus)

	TIR-NBS-LRR-	**RRS1-R**	**Arabidopsis**	**Ralstonia solanacearum (bacterium)**
	NLS-WRKY			
2	**LRR-TM**	**Cf-2, Cf-4**	**الطماطم**	**Cladosporium fulvum (fungus)**
		Cf-5, Cf-9		
3	**Kinase**	**Pto**	**الطماطم**	**Pseudomonas syringae (bacterium)**

تابع جدول (11-10):

المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	النبات الحامل للجين	الجين المنتج للبروتين	طبيعة البروتين المسئول عن المقاومة(أ)	فئة البروتين المسئول عن المقاومة
Pseudomonas syringae (bacterium)	Arabidopsis	PBS1		
Puccinia graminis (fungus)	الشعير	Rpg1	Kinase-kinase	
Xanthomonas oryzae (bacterium)	الأرز	Xa21	LRR-TM-Kinase	4

		FLS2	Arabidopsis	Innate immunity (flagellin)
5	Unique	HS1pro-1	بنجر السكر	Heterodera schachtii (nematode)
6	Unique	RPW8	Arabidopsis	Erysiphe (fungus)
7	Membrane	Mlo	الشعير	Blumeria graminis (fungus)
	protein			
8	Cell-surface	Ve1	الطماطم	Verticillium albo-atrum (fungus)
	glycoprotein			
9	Toxin reductase	Hm1	الذرة	Cochliobolus carbonum (fungus)

أ – اختصارات طبيعة البروتين المسئول عن المقاومة:

TIR = Toll interleukin receptor; LRR = leucine-rich repeat; NBS = nucleotide binding site; CC = coiled coil; NLS = nuclear localisation signal; WRKY = transcription factor; and TM = transmembrane.

ولمزيد من التفاصيل فى هذا الموضوع يراجع Takken & Joosten (2000).

ولقد اقترح أن تعديل النباتات وراثيًا بكل من جين المقاومة وجين عدم الضراوة المقابل له (جداول 11-11، و 11-12، و 11-13) يوفر للنبات مقاومة عريضة ضد المسبب المرضى (جدول 11-14). ويتطلب الأمر تنظيم التعبير عن تلك الجينات بحيث لا يحدث التعبير إلا بعد حدوث الإصابة بالمسبب المرضى؛ وذلك لمنع تدمير النبات، كما أن تلك الاستراتيجية لا تصلح إلا مع المسببات المرضية الـ necrotrophic (عن Pink 2002).

جدول (11-11): جينات عدم الضراوة الفطرية التى تم عزلها (عن DeWit 1995).

جين عدم الضراوة	البادئ/البروتين المنتج	النشاط
Avr9	63 aa/28 aa	حث فرط الحساسية فى التركيب الوراثى: Cf9
Avr4	135 aa/106 aa	حث فرط الحساسية فى التركيب الوراثى: Cf4
PWL2	145 aa/?	غير معروف
AVR2-YAMO	223 aa/?	غير معروف
avrRrs1	82 aa/60 aa	حث إنتاج البروتين PRHv-1 فى صنف الشعير Atlas 46
parA1	118 aa/98 aa	حث التحلل فى التبغ والفجل واللفت

جدول (11-12): بعض جينات المقاومة - وجينات الضراوة المقابلة لها – التى تم عزلها (عن Jones 2000).

العائل	جين المقاومة	المسبب المرضى	جين الضراوة
التبغ	N	Tobacco mosaic virus	Helicase domain of replicase
الطماطم	Pto	Pseudomonas syringae	AvrPto
	Prf	pv. tomato	
	Cf-9	Cladosporium fulvum	Avr9
	Cf-4		Avr4
البطاطس	Rx	Potato virus X	Coat protein
Arabidopsis	RPS2	P. s. pv. tomato	AvrRpt2
	RPS4	P. s. pv. pisi	AvrRps4

	RPS5	P. s. pv. phaseolicola	AvrPphB
	RPM1	P. s. pv. glycinea	AvrB
		P. s. pv. maculicola	AvrRpm1
الأرز	Pita	Magnaporthe grisea	Avr2YAMO

جدول (11-13): بعض جينات عدم الضراوة avirulence genes التى عزلت من Pseudomonas syringae (عن Vivian وآخرين 1997).

	الذى عُزِلَ من		الذى عُزِلَ من
رمز الجين	الطرز الباثولوجى:	آليل لـ :	الطرز الباثولوجى:
avrA	tomato	avrA	glycinea
avrPphC	phaseolicola	avrC	glycinea

تابع جدول (11-13):

	الذى عُزِلَ من		الذى عُزِلَ من
رمز الجين	الطرز الباثولوجى:	آليل لـ :	الطرز الباثولوجى:
avrD2	glycinea	avrD	tomato
avrD3	lachrymans	avrD (allele 1)	tomato
avrD4	lachrymans	avrD (allele 2)	tomato
avrD5	phaseolicola	avrD	tomato
avrPmaA1	maculicola	avrPpiA	pisi
avrPmaA2	maculicola	avrPpiA	pisi

جدول (11-14): التفاعلات بين مختلف سلالات الفطر Cladosporium fulvum والطماطم الحاملة لجين المقاومة Cf9 (عن de Wit 1992).

سلالة الفطر	التركيب الوراثي المفترض لسلالة الفطر	التفاعل مع الجين Cf9(أ)	إنتاج الـــ avr9-elicitor	استجابة التركيب الوراثي Cf9(ب)
0	A2A4A5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)(جـ)
2	a2A4A5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
4	A2a4A5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
5	A2A4a5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
2.4	a2a4A5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
2.5	a2A4a5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
4.11	A2a4A5A6A9a11	I	يُنتج	HR (necrosis)
2.4.5	a2a4a5A6A9A11	I	يُنتج	HR (necrosis)
2.5.9	a2A4a5A6a9A11	C	لا يُنتج	عدم الاستجابة

2.4.11	a2a4A5A6A9a11	I	يُنتج	HR (necrosis)
2.4.5.9	a2a4a5A6a9A11	C	لا يُنتج	عدم الاستجابة
2.4.5.11	a2a4a5A6A9a11	I	يُنتج	HR (necrosis)
3.4.9.11	a2a4A5A6a9a11	C	لا يُنتج	عدم الاستجابة
2.4.5.9.11	a2a4a5A6a9a11	C	لا يُنتج	عدم الاستجابة

أ – التفاعلات: I = غير متوافق incompatible (النبات مقاوم)، و C = متوافق compatible (النبات قابل للإصابة).

ب – HR : استجابة فرط الحساسية hypersensitive response، و necrosis = تحلل.

ومع التقدم فى عزل الجينات وفى تقنيات الدنا تبين لنا تدريجيًّا أن كثيراً من حالات المقاومة فى أجناس نباتية مختلفة تُستثار بنفس جين عدم الضراوة avirulence البكتيرى. ولقد أصبح السؤال المثار حاليًّا هو: هل توجد أسس فعلية وواقعية للتمييز بين مقاومة الأنواع التى تعتبر من عوائل مسبب مرضى معين ومقاومة الأنواع التى لا تعد من عوائله؟ (عن Day 1992).

الاعتماد على الجينات التى تتحكم فى إنتاج البروتينات المضادة للفطريات

تعتمد خاصية المقاومة فى حالة هندسة نباتات تحمل جينات تتحكم فى إنتاج بروتينات مضادة للفطريات على قدرة النباتات التى حولت وراثيًّا على إنتاج إنزيمات معينة تكون مدمرة للفطريات التى يمكن أن تهاجم تلك النباتات.

ومن بين البروتينات ذات العلاقة بالحماية من الإصابات المرضية فى النباتات تلك التى تلعب دورًا فى عملية اللجننة **lignification**، وفى تمثيل الفيتو ألاكسينات **phytoalexins**، وكذلك إنزيمات الشيتينيز **chitinases**، والـ **β-1,3-glucanases**، ومثبطات البروتينيز **proteinase inhibitors**، والبروتينات المثبطة لعمل الريبوسومات **ribosome inactivating proteins** (عن **Nascari & Montanelli 1997**).

كذلك يفيد استخدام الجينات التى تشفر لتكوين البولى بيبتيدات الصغيرة الغنية فى السيستين، مثل: الثيونينات **thionins**، والهيفينات **heveins**، وهى المركبات التى تؤدى إلى تدهور الأغشية الخلوية للفطريات، كما تقوم الأخيرة بربط الشيتين فى الجدر الخلوية للفطريات (عن **Williamson 2002**).

ومن أكثر الجينات أهمية فى عمليات هندسة النباتات لمقاومة الفطريات عن طريق البروتينات المضادة لها **antifungal protein-mediated resistance** الجينين المتحكمين فى إنتاج كل من الشيتينيز **chitinase**، والجلوكانيز **glucanase**، حيث يعمل هذان الإنزيمان على الجدر الخلوية للفطريات المهاجمة للنباتات؛ مما يجعلها أكثر حساسية لقوى الدفاع الطبيعية العادية للنباتات (عن **Chahal & Gosal 2002**).

وتجدر الإشارة إلى أن الاستعانة بالجينات التى تحلل الجدر الخلوية للبكتيريا والفطريات – بهدف مقاومة النباتات لها – ليس لها أى تأثير على الجدر الخلوية للنباتات التى تختلف – تمامًا – فى تركيبها – عن الجدر الخلويـة للبكتيريا والفطريات.

إنزيمات الشيتينيز والجلوكونيز

تتكون الجدر الخلوية للفطريات من مكونين، هما: الجلوكان glucan، والشيتين chitin، وهما اللذان يمكن تحللهما بواسطة كل من الـ glucanases (مثل: β-1,3-glucanase) والـ chitinases – على التوالى، هذا .. إلا أن تركيب الشيتين يتباين كثيراً بين الأنواع الفطرية المختلفة؛ ولذا .. فإن إنزيم الشيتينيز chitinase الذى يكون فعالاً ضد أحد الفطريات لا يلزم – بالضرورة – أن يكون فعالاً ضد الفطريات الأخرى، بما يعنى أن نجاح إكساب النباتات صفة المقاومة لفطر ما بطرق الهندسة الوراثية التى تعتمد على تحويلها وراثيًّا باستعمال إنزيم الشيتينيز يعتمد على الاختيار المناسب للإنزيم الذى يكون فعالاً ضد الفطر المعنى (عن Broglie & Broglie 1994، و Chrispeels & Sadava 2003).

وكان Brooglie وآخرون (1993) قد قدما شرحًا لعملية التحول الوراثى للتبغ بجين الفاصوليا endochitnase، والذى أدى التعبير عنه فى التبغ إلى جعله مقاومًا للفطر Rhizoctonia solani. ومن المعتقد أن مرد ذلك كان إلى تحليل الإنزيم لشيتين الجدر الخلوية للفطر.

ومن المعروف أن البكتيريا Serratia marcescens وكائنات دقيقة أخرى كثيرة تفرز طرزا مختلفة من الإنزيمات التى تعمل على تحليل الشيتين chitinases، وهى التى ثبتت فاعليتها ضد الفطريات، التى تحتوى جدرها الخلوية على الشيتين chitin كمكون أساسى. كذلك ربما يكون لتلك الإنزيمات تأثيرات ضارة على الحشرات والنيماتودا. ولكن يتعين تحديد إنزيم الشيتينيز chitinase المناسب للعمل ضد المسببات المرضية المعنية. وقد يبدو من المفيد نقل جينات تتحكم فى إنتاج عدة إنزيمات شيتينيز مرة واحدة لأجل الحصول على مدى واسع من المقاومة.

وتجدر الإشارة إلى أن النباتات ذاتها يمكن أن تنتج إنزيمات الشيتينيز - ضمن مركبات أخرى - استجابة للإصابة بالمسببات المرضية (Mount & Berman 1994).

وبينما يكون نشاط الشيتينيز فى النباتات السليمة غير المصابة منخفضًا، أو غير ملحوظ، فإن ذلك النشاط يزداد بوضوح بعد الإصابة بأحد الفطريات الممرضة، أو بعد المعاملة بأحد المثيرات elicitors. وبينما يحمى الشيتينيز النباتات من الإصابة بالفطريات التى تحتوى على شيتين chitin فى جدرها الخلوية، فإنه لا يكون مؤثرًا على الفطريات التى يعوزها الشيتين (عن Nascari & Montanelli 1997).

وقد ازدادت مقاومة الطماطم للإصابة بالفطريات عندما حولت وراثيًّا بكل من طراز I من إنزيم الشيتينيز class I chitinase، وطـراز I من إنـزيم بيتا 1، 3 جلوكانيز class I β-1,3-glucanase من التبغ، بينما لم يؤد التحول الوراثى للطماطم بأى من الجينين على انفراد إلى حمايتها من الإصابة الفطرية. ولقد بلغ مقدار النقص فى شدة الإصابة بالفطر Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici فى نباتات الطماطم المحولة وراثيًّا المقاومة، مقارنة بالوضع فى النباتات غير المحولة وراثيًّا: 36%، و 58%، وذلك فى سلالتين محولتين وراثيًّا من الطماطم. وقد حدث تخلص كامل من الإصابة الأولية بالفطر فى سلالتين محولتين وراثيًّا، فى الوقت الذى كانت فيه نباتات المقارنة قد قتلها الفطر. وتتفق تلك النتائج مع ما هو معروف من أن كـلا الإنزيمين class I chitinase، و class I β-1,3-glucanase يعملان - تداؤبيًّا synergistically - على تثبيط نمو الفطريات فى البيئات الصناعية (Jongedijk وآخرون 1995).

وقد أمكن تحويل عددًا من أصناف الخيار والجزر وراثيًّا بجينات مختلفة للشيتينيز **chitinase** حُصِل عليها من كل من البيتونيا، والتبغ، والفاصوليا. وبينما لم تُظهر نباتات الخيار المحولة وراثيًّا بأى واحد من الجينات الثلاثة أى فروق معنوية عن النباتات غير المحولة لدى عدواها بأى من الفطريات الممرضة: **Alternaria cucumerina**، و **Botrytis cinerea**، و **Colletotrichum orbiculare**، و **Rhizoctonia solani** .. فإن نباتات الجزر المحولة بجين شيتينيز التبغ أظهرت مقاومة أعلى بصورة معنوية ضد الإصابة بأى من الفطرين **R. solani**، أو **Corticium rolfsii** مقارنة بالنباتات غير المحولة وراثيًّا؛ هذا بينما لم تظهر تلك المقاومة فى نباتات الجزر المحولة وراثيًّا بجين شيتينيز البيتونيا، وفى كليهما .. لم تظهر أى مقاومة فى نباتات الجزر المحولة وراثيًّا ضد أى من الفطرين **Alternaria radicina**، أو **Thielaviopsis basicola**. ويستدل من تلك النتائج على أن كفاءة التحول الوراثى بجينات الشيتينيز فى مقاومة النباتات للفطريات تتأثر بكل من النوع النباتى المحول وراثيًّا، وجين الشيتينيز المستخدم، والفطر المستهدف مقاومته (**Punja & Rharjo 1996**).

كذلك أمكن تحويل الخيار وراثيًّا بجين شيتينيز من الأرز، وأظهرت النباتات المحولة وراثيًّا مستوى من المقاومة للفطر **Botrytis cinerea** أعلى من نباتات المقارنة، وتوقف فيها انتشار المرض كلية (**Tabei** وآخرون **1997**).

كذلك أمكن تحسين المقاومة للأمراض فى النباتات بتحويلها وراثيًّا بجينات من فطريات تستخدم فى المقاومة الحيوية. فعلى سبيل المثال .. أمكن نقل الجين المسئول عن إنتاج شيتينيز قوى التأثير على الفطريات من **Trichoderma harzianum** إلى كل من التبغ والبطاطس، وظهرت مستويات عالية من الإنزيم المضاد للفطريات فى الأنسجة النباتية المختلفة، دون أن يكون لذلك أى تأثيرات منظورة على نمو النباتات أو تطورها. ولقد أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا تحملاً أو مقاومة تامة للفطريات: **Alternaria alternata**، و **A. solani**، و **Botrytis cinerea**، و **Rhizoctonia solani**؛ الأمر الذى يجعلها أفضل حالاً بكثير من تلك التى تحول بجينات الشيتينيز المتحصل عليها من النباتات أو البكتيريا (**Lorito** وآخرون **1998**).

وأمكن تحويل البروكولى وراثيًّا بجين endochitinase حُصِل عليه من Trichoderma harzianum، وذلك لإكسابه صفة المقاومة للفطر Alternaria brassicicola (Mora & Earle 2001).

بروتينات الديفنسين

يُستفاد – كذلك من بروتينات الديفينسين definsins فى عمليات التحول الوراثى، وهى بروتينات تتواجد فى كل الخلايا الحية، ولها خصائص متنوعة، ولكنها تشترك جميعها فى كونها ببتيدات صغيرة (26-50 حمض أمينى) مضادة للميكروبات. تُظهر الديفينسينات نشاط انحلالى lytic بالارتباط داخل الغشاء البلازمى الميكروبى؛ علمًا بأنه يكون من الصعب جدًّا على أى مسبب مرضى أن يطور مقاومة لهذا التأثير نظرًا لأهمية المحافظة على كمال الغشاء البلازمى لاستمرار بقاء الكائن؛ ومن ثم لا يمكن أن تحدث به تغيرات تمنع هذا الارتباط بين الديفينسينات وبينه.

ولقد أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين الديفينسين alfAFP من البرسيم الجازى، حيث تبين تمثيل الديفينسين فى النباتات التى حولت وراثيًّا وتم إفرازه فى المسافات بين الخلايا فى كل من الأوراق والجذور، وأظهرت النباتات مقاومة معنوية ضد الفطر Verticillium dahlia، بدرجة كانت مماثلة للمقاومة الطبيعية فى أصناف البطاطس المقاومة لهذا الفطر، إلاّ أن النباتات المحولة وراثيًّا لم تكن مقاومة للفطر Alternaria solani (عن Slater وآخرين 2003).

الإنزيمات المثبطة لنشاط الريبوسومات

تفيـد البروتينات المثبطة للريبوسومات ribosome-inactivating proteins (اختصارًا: RIP) فى عمليات التحول الوراثى إذ إنها تمنع الريبوسومات من القيام بعملها؛ ومن ثم يتوقف تمثيل البروتين. ولهذه البروتينات درجات مختلفة من التخصص، وبعضها يؤثر على الثدييات (عن Williamson 2002).

وقد أحدث إدخـال جينات تتحكم فى إنتاج البروتينات المثبطة للريبوسومات مع جين الشيتينيز .. أحدث ذلك تأثيرًا متدائبًا synergistic. ولقد نقل بالفعل جين الفجل Rs-AFP2 الذى يشفر لإنتاج مضاد الفطريات 2 antifumgal 2 .. نقل إلى التبغ الذى أظهر مقاومة للفطر Alternaria longipes (عن Chahal & Gosal 2002).

بروتينات أخرى تفيد فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض

من بين البروتينات الأخرى التى حازت باهتمام الباحثين فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الفطريات المسببة للأمراض، ما يلى:

● يحتوى عنب الذئب (أو عنب الثعلب) pokeweed على بروتين مضاد للفيروسات، وقد أظهرت نباتات التبغ التى حولت وراثيًّا بالجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين تدهورًا شديدًا فى نموها، إلاّ أن إطفار هذا الجين واستخدام الجين المطفر فى عملية التحول الوراثى أدى إلى إنتاج نباتات تبغ طبيعية النمو ومقاومة للفيرس، كما كانت كذلك - وعلى غير المتوقع - مقاومة للفطر Rhizoctonia solani، وارتبط ذلك بإنتاج النباتات المحولة وراثيًّا لعدد من البروتينات ذات العلاقة بالدفاع ضد الإصابات الفطرية (عن Williamson 2002).

● **أمكن تحويل الطماطم وراثيًّا بالجين المسئول عن تكوين البروتين هاربين harpin والمتحصل عليه من البكتيريا Erwinia amylovora المسببة لمرض اللفحة النارية فى التفاح والكمثرى. وبعدوى النباتات بسلالة مركبة من الفطر Phytophthora infestans وجد أن زيادة تعبير النباتات عن الهاربين – سواء أكان ذلك ذاتيًّا أم بسبب حث المسبب المرضى على ذلك – أدى إلى انخفاض معدل نمو البقع المرضية (Li & Fan 1999).**

الاعتماد على الجينات التى تتحكم فى إنتاج مركبات مضادة للفطريات

قد يُحصل على الجينات التى تتحكم فى إنتاج المركبات المضادة للفطريات من حالات المقاومة الطبيعية كتلك التى أسلفنا بيانها (مثل الجينات التى تتحكم فى إنتاج الفيتوألاكسينات)، وقد تكون من مصادر أخرى نباتية أو غير نباتية.

الجينات التى تتحكم فى إنتاج الفيتوألاكسينات

تعد الفيتوألاكسينات **phytoalexins** من المركبات المضادة للكائنات الدقيقة، وتلعب – بطبيعتها – دورًا فى مقاومة النباتات للمسببات المرضية الفطرية والبكتيرية، وتعرف المقاومة التى تعتمد عليها بأنها **antifungal-compound mediated resistance**.

وقد أمكن تحويل الطماطم وراثيًّا وجعلها قادرة على إنتاج فيتوألاكسين نبات العنب؛ بهدف حمايتها من الإصابة ببعض الفطريات الممرضة؛ فقد نقل إلى الطماطم جينين من جينات الـ **stilbene** من العنب، حيث حدث التعبير عن كليهما فى النباتات المحـولة وراثيًّا ونسلها لدى عدواها بالفطر **Phytophthora infestans**، أو تجريحها، أو تعريضها للأشعة فوق البنفسجية. وحدث تراكم قوى للرنا الرسول الخاص بالإنزيم **stilbene synthase** لدى عدوى النباتات بكل من **P. infestans**، و **Botrytis cinerea**، حيث أمكن ملاحظته فى الأوراق بعد 30 دقيقة من عدواها. ووصل هذا التراكم إلى ذروته بعد 24 سـاعة من الحقن الفطرى، ثم اختفى فى خلال 72 ساعة. كذلك حدث تراكم قوى للمركب **resveratrol**، وصل ذروته بعد 44 ساعة، ثم قل تدريجيًّا، وأدى تواجده إلى الحد من الإصابة بالفطر **P. infestans** (**Thomzik** وآخرون 1997).

كذلك أمكن الاستفادة من عملية التحول الوراثى السالفة الذكر ذاتها فى مقاومة مرض العصفة فى الأرز (عن **Chahal & Gosal 2002**).

جينات المضادات الحيوية

إن أحد الاتجاهات التى يفكر فيها علماء الهندسة الوراثية لإنتاج نباتات مقاومة للأمراض (الفطرية والبكتيرية وتلك التى تسببها الفيكوبلازما)، هى بتحويلها وراثيًّا لتحتوى على الجينات المتحكمة فى إنتاج أحد المضادات الحيوية المؤثرة فى المسببات المرضية المعنية، ومنها – على سبيل المثال – المضاد الحيوى nikkomycin الذى ينتجه الاستربتوميسيت Streptomyces tendae، والذى أوضحت الدراسات عدم سميته لفئران التجارب.

ومن أهم الاعتراضات على هذا الاتجاه فى الهندسة الوراثية، ما يلى

1 – الأخطار الصحية التى قد يتعرض لها الإنسان من جراء تناول أطعمة تحتوى على مضادات حيوية.

2 – قد تطور الكائنات الممرضة التى عُدِّلَت النباتات لكى تكون مقاومة لها .. قد تطور سلالات جديدة مقاومة لفعل تلك المضادات.

ويمكن الحد من تلك التأثيرات السلبية باستعمال جينات منظمة لظهور فعل جينات المضادات الحيوية، بحيث لا يظهر إلاّ فى مرحلة معينة من النمو (كالبادرات – مثلاً – لمقاومة فطريات الذبول الطرى)، أو فى جزء معين من النبات لتجنب ظهور أمراض معينة لا تصيب إلاّ ذلك الجزء (عن Mount & Berman 1994).

الجينات التى تتحكم فى إنتاج مركبات أخرى

من بين عمليات التحول الوراثى التى أجريت بهدف إنتاج مركبات أخرى مضادة للفطريات، ما يلى:

الأحماض الدهنية غير المشبعة

أدى تحويل الطماطم وراثيًا بجين الخميرة المسئول عن تكوين الإنزيم stearoyl-CoA desaturase إلى زيادة محتوى أوراقها من الأحماض الدهنية، ولدى اختبار مقاومتها للفطر Erysiphe polygoni المسبب للبياض الدقيقى، وجد أن المستعمرات الفطرية التى ظهرت عليها كانت أصغر مساحة وأقل احتواء على الجراثيم الكونيدية عما كان عليه الحال فى النباتات التى لم تحول وراثيًا. وقد أوضحت الدراسات أن إنبات جراثيم الفطر فى البيئات التى تحتوى على أحماض دهنية مختلفة ثبط معنويًا عند تواجد أحماض دهنية غير مشبعة. كذلك احتوت نباتات الطماطم المحولة وراثيًا على تركيزات أعلى من إنزيمات البيروكسيديز peroxidases عما فى النباتات غير المحولة (Wang وآخرون 1998).

فوق أكسيد الأيدروجين

يتضمن النظام الدفاعى للنباتات ضد الإصابات المرضية إنتاج مركبات ذات قدرة عالية على الأكسدة، مثل فوق أكسيد الأيدروجين H2O2. ولدراسة ذلك الأمر تم تحويل البطاطس وراثيًا بجين الفطر Aspergillus niger الذى يشفر لتمثيل الإنزيم glucose oxidase، الذى يعمل على إنتاج فوق أكسيد الأيدروجين عندما يتأكسد الجلوكوز. أدت عملية التحول الوراثى تلك إلى زيادة مستويات فوق أكسيد الأيدروجين فى كل من الأوراق والدرنات، وأظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة قوية ضد بكتيريا العفن البكتيرى الطرى الذى تسببه البكتيريا Erwinia carotovora subsp. carotovora، واستمرت حالة المقاومة فى كل من الظروف الهوائية واللاهوائية. ويبدو أن تلك المقاومة كان مردها إلى المستويات العالية التى تكونت من فوق أكسيد الأيدروجين، نظرًا لأنها – أى المقاومة – اختفت لدى معاملة الأنسجة المحولة وراثيًا والمحقونة بالبكتيريا بإنزيم محلل لفوق أكسيد الأيدروجين H2O2 degrading catalase. كذلك أظهرت النباتات المحولة وراثيًا مقاومة جيدة ضد الفطر Phytophthora infestans المسبب للندوة المتأخرة، حيث تأخر ظهور البقع المميزة للإصابة بهذا الفطر (Wu وآخرون 1995).

كذلك أظهرت نباتات البطاطس التى حولت وراثيًّا بهذا الجين مقاومة عالية لعدد آخر من الأمراض الفطرية والبكتيرية، وخاصة لمرض ذبول فيرتسيلليم. كما أظهرت نباتات الأرز التى حولت وراثيًّا بجين فوق أكسيد الأيدروجين مقاومة للفطريات (عن Chahal & Gosal 2002).

الجينات المستعملة فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة البكتيريا

لم تلق جهود الهندسة الوراثية لأجل مقاومة الأمراض البكتيرية نجاحًا كبيرًا، ومن الأمثلة القليلة الواعدة فى هذا الشأن، ما يلى:

جينات المقاومة الطبيعية

قد تكون الجينات المتحصل عليها من النباتات الراقية – لأجل عمليات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض البكتيرية – من جينات المقاومة الطبيعية للمرض ذاته أو لأمراض أخرى فى النباتات التى حُصَلِ منها على تلك الجينات، ومن الأمثلة على ذلك، ما يلى:

● من بين جينات المقاومة الطبيعية التى تكثر الدراسات عليها حاليًّا فى مجال هندسة المقاومة للأمراض البكتيرية: الجين Rps2 من Arabidopsis، وجينا الطماطم Cf9، و Pto (عن Chahal & Gosal 2002).

● أمكن عزل طفرة من النبات الموديل Arabidopsis thaliana تؤدى إلى وقف ظهور أعراض الإصابة بالذبول بعد حقن النبات بسلالة عالية الضراوة من البكتيريا Ralstonia solanacearum. أعطى هذا الجين الرمز nws1 (حيث لا توجد أعراض ذبول no wilt symptoms). ولم يكن لغياب أعراض الذبول ارتباطًا مع أى موت لخلايا العائل، أو لأى تعبير معين لجينات حامض السلسليك salicylic acid أو حامض الجاسمونيك jasmonic acid، أو تلك المتعلقة بالإثيلين، كما كانت هذه الطفرة خاصة - فقط - بتلك البكتيريا (Feng وآخرون 2004).

● وتتطلب مقاومة الطماطم للبكتيريا Pseudomonas syringae pv. tomato الجينين Pto، و Prf. وفى الطفرات التى يختفى فيها الجين Prf تُفْقَد المقاومة للـ Pto، والحساسية للمبيد الحشرى العضوى الفوسفورى فِنثيون fenthion؛ مما يفيد تحكم الجين Prf فى كلا الشكلين المظهريين. ولقد وجـد أن زيادة التعبير عن الجين Prf تؤدى إلى زيادة المقاومة لعدد من المسببات المرضية البكتيرية والفيروسية وزيادة الحساسية للفنثيون، كما تُظهر تلك النباتات مستويات من حامض السلسليك تقارن بما تظهره النباتات التى تحدث بها حالات المقاومة الجهازية المكتسبة. ويستفاد من تلك الدراسة أن زيادة التعبير عن Prf يُنَشِّط المسارات الأيضية لكل من الـ Pto والـ Fen بطريقة مستقلة عن المسبب المرضى، وتؤدى إلى تنشيط المقاومة الجهازية المكتسبة (Oldroyd & Staskawicz 1998).

● أمكن تحويل الأرز وراثيًّا بالجين Xa21 – الذى يكسبه مقاومة ضد البكتيريا Xanthomonas oryzae – بنقله إليه من النوع Oryza longista-minata؛ الأمر الذى لم يمكن تحقيقه بطرق التربية التقليدية.

هذا .. إلاّ أنه عندما نقل جين الفلفل Bs2 – المسئول عن مقاومته للبكتيريا Xanthomonas – إلى أنواع من غير الباذنجانيات فإنه لم يكن فعّالاً؛ مما يعنى أن جينات المقاومة R genes قد تقتصر فاعليتها على الأنواع المتقاربة تقسيميًّا فقط (عن Dickinson 2003).

جينات مستمدة من البكتيريا

تستخدم فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة البكتيريا جينات بكتيرية تلعب دورًا فى حث استجابة فرط الحساسية فى النباتات (يراجع لذلك Gobalan & He 1996).

التعبير عن جينات البكتيروفاجات

أدى التعبير عن الـ bacteriophage T4 lysozyme فى البطاطس المحولة وراثيًّا إلى زيادة مقاومتها للبكتيريا Erwinia carotovora.

وتجدر الإشارة إلى أن الليزوزيمات تعد من البروتينات ذات النشاط المضاد للبكتيريا.

الجينات التى تشفر لتكوين بروتينات مضادة للبكتيريا

يمكن الاستفادة من الجينات التى تشفر لبروتينات ذات نشاط مضاد للبكتيريا، وهى التى تعرف باسم lytic proteins، مثل: السركوبينات cercopins، والأتّاسينات attacins، والليزوزيمات lysozymes (التى أسلفنا الإشارة إليها).

وعلى سبيل المثال .. أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بالجين cercopin B، وكانت النباتات الناتجة أكثر تحملاً للسلالة 3 من البكتيريا Ralstonia solanacearum عن النباتات غير المحولة وراثيًّا.

كذلك فإن الجينات التى تشفر لتكوين البولى بيبتيدات الصغيرة مثل الثيونينات thionins - وهى التى تؤدى إلى تدهور الأغشية الخلوية فى الكائنات الدقيقة - تفيد فى عمليات التحول الوراثى. وقد وجد أن التعبير عن جين الشعير α-thionin فى التبغ المحول وراثيًّا يزيد بشدة من مقاومته للبكتيريا Pseudomonas syringae، إلاّ أن محاولات أخرى مع هذا البروتين لم تُحسن من صفة المقاومة (عن Slater وآخرين 2003).

هذا .. وتتركب الجدر الخلوية للبكتيريا مما يعرف باسم peptidoglycans، وهى تتكون من بروتين ومكونات كربوهيدراتية يمكن هضمها بالإنزيم ليزوزيم lysozyme، الذى يوجد بوفرة فى بيض الدجاج. يتواجد هذا الإنزيم – كذلك – فى معدة الماشية حيث يلعب دورًا فى تحليل البكتيريا التى تتكاثر هناك لأنها تساعد فى تحليل السليليوز والمكونات الأخرى للجدر الخلوية النباتية. ومن الممكن استعمال إنزيم الماشية هذا المُحلِّل للجدر الخلوية للبكتيريا فى عمليات التحول الوراثى للنباتات. ولقد أمكن – بالفعل – نقل هذا الجين إلى الخميرة Pichia pastoris التى أصبحت قادرة على إنتاج كميات ضخمة من إنزيم الليزوزيم. ولدى استعمال هذا الإنزيم فى معاملة بذور النباتات بتركيز 25-100 جزء فى المليون فإنه أدى إلى قتل ما على تلك البذور من بكتيريا.

هذا .. إلاّ إنه من مخاطر استعمال إنزيم الليزوزيم فى عمليات التحول الوراثى ثباته الشديد؛ الأمر الذى قد يؤدى إلى قتله للبكتيريا النافعة فى التربة؛ ولذا .. يتعين التأكد من مدة بقاء الإنزيم فى التربة بعد زراعة نباتات محولة وراثيًّا به، وما هى تأثيراته على بكتيريا التربة (عن Chrispeels & Sadava 2003).

ولقد أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين الدجاج chly المسئول عن تكوين الإنزيم lysozyme (وهو إنزيم يحلل الشيتين والببتى دوجليكان petidoglycan)، وقد أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا مقاومة للإصابة بالبكتيريا Erwinia carotovora subsp. atroseptica المسببة لمرض العفن الأسود لقاعدة الساق والعفن الطرى. وقد ارتبط مستوى المقاومة بمستوى التعبير عن الجين chly فى النباتات المحولة وراثيًّا (Serrano وآخرون 2000).

الجينات التى تشفر لتكوين مركبات مضادة للبكتيريا

من بين محاولات التحول الوراثى التى أجريت بهدف التشفير لتكوين مركبات مضادة للبكتيريا، ما يلى:

● تم تحويل البطاطس وراثيًّا بالجين المنتج للبروتين sarcotoxin IA (وهو سُم بكتيرى) المتحصل عليه من Sarcophaga peregrina، وذلك لجعلها أكثر تحملاً للإصابة للأعفان التى تسببها كلا من Erwinia spp.، و Ralstonia solanacearum (Galun وآخرون 1997).

● أمكن تخليق جين فى المختبر – يتميز بنشاطه الواسع المدى المضاد للكائنات الدقيقة – أعطى الرمز MsrA1، وهو يشفر لتكوين المركب: N terminus-modified, cecropin-melittin cationic peptide chimera ذات الفاعلية الواسعة المدى ضد الكائنات الدقيقة. وقد تم نقل هذا الجين المخلق إلى البطاطس، التى لم يتأثر مظهرها أو محصولها من الدرنات، بينما كانت شديدة المقاومة للمسببات المرضية التى حقنت بها البطاطس، وهى: Phytophthora cactorum، و Fusarium solani، و Erwinia carotovora. ولقد احتفظت الدرنات المحولة وراثيًّا بقدرتها على المقاومة لأكثر من عام، ولم تَظهر أى أضرار على الفئران التى غذيت عليها (Osusky وآخرون 2000).

● أمكن تحويل البطاطس وراثيًّا بجين تم تحضيره من جينى الديفينسين: cecropin من الفراشة giant silkmoth، والـ melittin من نحل العسل، وباختبارها تبين مقاومتها للبكتيريا Erwinia carotovora المسببة للعفن الطرى البكتيرى.

● تُجرى محاولات تأخذ اتجاهات شتى فى محاولة لتحويل التفاح والكمثرى وراثيًّا بأنواع مختلفة من البروتينات المضادة للميكروبات لأجل مقاومتها للبكتيريا Erwinia amylovora المسببة للفحة. ولقد نجح تحويل التفاح وراثيًّا بجين الـ attacin E فى جعله أكثر مقاومة للبكتيريا تحت ظروف الحقل (عن Slater وآخرين 2003).

● يؤدى المركب المعروف باسم tachyplesin I [وهو ببتيد مضاد للميكروبات يُنتجه سلطعون حدوة الحصان الآسيوى Tachypleus tridentatus (أحد أنواع سرطانات البحر)] .. يؤدى بتركيز 11.1-1.4 ميكروجرام/مل فى البيئات الصناعية إلى قتل البكتيريا .Erwinia spp المسئولة عن إصابة البطاطس بكل من العفن الطرى وعفن قاعدة الساق الأسود. وعندما حولت البطاطس وراثيًّا بالجين الذى يشفر لهذا المركب كانت الدرنات أقل إصابة قليلاً ببكتيريا العفن الطرى Erwinia carotovora subsp. atroseptica (Allefs وآخرون 1996).

● يتميز جليكوبروتين الثدييات: lactoferrin (الذى يأخذ الرمز Lf) بخاصيتى قتل البكتيريا bactericidal ووقف نشاطها bacteristatic، وذلك بالنسبة لمدى واسع منها، وكذلك تأثيره على الفطريات والفيروسات، حيث يتراوح التركيز القاتل منه بين 3، و 150 ميكروجرام/مل بالنسبة للبكتيريا، و 18-150 ميكروجرام/مل بالنسبة للخميرة، و 3-60 ميكروجرام/مل بالنسبة للفطريات الخيطية.

وقد أمكن تحويل التبغ وراثيًّا بالجين المسئول عن تكوين الـ lactoferrin الإنسانى، حيث أظهرت النباتات التى عُبِّرَ فيها عن هذا الجين تأخيراً جوهريًّا فى ظهور أعراض الإصابة بالذبول عندما تم عـدواها بالبكتيريا Ralstonia solanacearum، وكانت العلاقة طردية بين شدة التعبير عن الجين وشدة المقاومة للبكتيريا (Zhang وآخرون 1998).

الجينات التى تشفر لتكوين إنزيمات تلغى التأثير السام للسموم البكتيرية

إن عديدًا من الأنواع البكتيرية والفطرية الممرضة للنباتات تقوم بزيادة قدرتها على الإصابة (زيادة درجة ضراوتها virulence) بإنتاجها لسموم متخصصة على عوائل معينة أو غير متخصصة. ونظرًا لأن المسببات المرضية تكون مقاومة للسموم التى تنتجها، فإن الأعراض المرضية التى تُحدثها بعض تلك المسببات يمكن الحد منها بنقل جينات المسببات المرضية – التى تتحكم فى إنتاج تلك السموم – إلى النباتات. ومن الأمثلة الهامة على المقاومة – المتحصل عليها من المسبب المرضى – للأمراض التى تظهر أعراضها من خلال السموم التى تفرزها المسببات المرضية – حالة اللفحة الهالية فى الفاصوليا التى تسببها البكتيريا Pseudomonas syringae pv. phaseolicola.

إن الاصفرار الشديد الذى يظهر على النباتات التى تُصاب بهذه البكتيريا يحدث بفعل السم phaseolotoxin (وهو ثلاثى الببتيد tripeptide) الذى تفرزه البكتيريا. يثبط هذا السم الإنزيم ornithine carbamoyltransferase (اختصارًا: OCTase) الذى يقوم بتحويل كل من الـ ornithine والـ carbomyl phosphate إلى citrulline، وهو تفاعل يدخل فى تمثيل الـ arginine وفى التحولات بين الأحماض الأمينية من عائلة الـ glutamate. يثبط الـ phaseolotoxin – كذلك – نمو عديد من الأنواع البكتيرية نظرًا لاحتوائها – أيضًا - على OCTase.

تنتج البكتيريا Pseudomonas syringae pv. phaseolicola طرازين من الـ OCTase، أحدهما حساس للـ phaseolotoxin، والآخر مقاوم له. وأثناء النمو فى الجو البارد نسبيًّا – عندما يكون إنتاج الـ phaseolotoxin مثاليًّا – تنتج هذه البكتيريا الـ OCTase المقاوم فقط؛ ومن ثم تكون البكتيريا مقاومة للسم الذى تفرزه. ولقد عزل الجين المسئول عن إنتاج الـ OCTase البكتيرى غير الحساس ونقله إلى النباتات، التى أصبحت قادرة على إنتاج هذا الـ OCTase غير الحساس للـ phaseolotoxin، بالإضافة إلى الـ OCTase الأصلى الذى يعد حساسًّا لهذا السم.

هذا إلاّ أن وجود الـ OCTase غير الحساس فى النباتات يجعلها قادرة على التغلب على التثبيطات الإنزيمية التى يمكن أن تحدث عندما تنتج البكتيريا السم داخل النبات؛ ومن ثم تكون هذه النباتات أقل حساسية للسم وأقل إظهارًا لأعراض المرض (عن Lindow 1996).

ويشفر جين الطماطم Pto لإنزيم من الـ serine-threonine kinase، الذى يكسب النباتات مقاومة لسلالات البكتيريا Pseudomonas syringae pv. tabaci التى يُعَبَّرُ فيها عن جين عدم الضراوة avirulence gene الذى يأخذ الرمز avrPto. ولقد تبين أن سلالة التبغ Wisconsin-38 يظهر عليها حالة فرط حساسية hypersensitivity لدى حقنها (عدواها) بالبكتيريا P. syringae pv. tabaci التى يُعَبَّرُ فيها عن الجين avrPto. وعندما حولت سلالة التبغ Wisconsin-38 وراثيًّا بالجين Pto أظهرت النباتات زيادة معنوية فى المقاومة للبكتيريا، مقارنة بمقاومة السلالة الأصلية غير المحولة وراثيًّا (Thilmony وآخرون 1995). ولقد حدث الأمر ذاته عندما حولت نباتات Nicotiana benthamiana بنفس الجين Pto (Rommens وآخرون 1995)؛ مما يعنى أن جينات المقاومة تحافظ على خصائصها وتأثيراتها المسئولة عن صفة المقاومة المتخصصة حتى عند نقلها من جنس الآخر.

كذلك أمكن تحويل التبغ وراثيًّا بالجين ttr الخاص بتنظيم المقاومة للـ tabtoxin فى Pseudomonas syringae pv. tabaci، حيث أظهرت النباتات المحولة وراثيًّا مقاومة لكل من المعاملة بالسم البكتيرى وللإصابة بالبكتيريا. ومن الطبيعى أن هذه الاستراتيجية فى الهندسة الوراثية لا تفيد إلاّ مع الأمراض التى تلعب فيها السموم دورًا مباشرًا وأساسيًّا فى ظهور المرض (عن Nascari & Montanelli 1997).

الاستراتيجيات الأخرى لهندسة نباتات مقاومة للفطريات والبكتيريا

من بين الاستراتيجيات التى يفكر فيها علماء الهندسة الوراثية لإنتاج نباتات مقاومة لمسببات الأمراض، ما يلى:

1 - تجريد المسببات المرضية - التى تحدث أضرارها من خلال إفرازها لإنزيمات تقوم بتحليل الجدر الخلوية - تجريدها من أسلحتها، ليس بوقف إنتاج تلك الإنزيمات - فهى كثيرة - وإنما بالحد من مفعولها بتعديل النباتات بجينات تؤثر فى انتقال تلك الإنزيمات فى النباتات، وهى التى ينظم انتقالها جينات مثل Aep (وهو رمز لوظيفة الجين: activation of extracellular enzyme production)؛ فإذا أمكن تحديد ونقل جين يحد من نشاط الجين Aep activator لأمكن الحد من انتقال إنزيمات بعينها، كتلك التى تعمل على تحلل الجدر الخلوية.

2 - نقل الجينات التى تجعل النباتات أقل عرضة للتجريح، أو تزيد من سرعة الاستجابة للتجريح، أو تزيد من سرعة تكوين بيريدرم الجروح.

3 - إبطاء النضج بحيث لا تفقد الثمار صلابتها سريعًا بعد الحصاد؛ ومن ثم تستمر أقل عرضة للإصابة بالأعفان لأطول فترة ممكنة بعد الحصاد (Mount & Berman 1994).

الإنجازات فى مجال التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية

على الرغم من حداثة العهد نسبيًا فى مجال دراسات التحول الوراثى لإنتاج نباتات مقاومة للفطريات والبكتيريا الممرضة للنباتات، فقد تم إنتاج واختبار عديد من حالات التحول الوراثى فى عدد من أهم المحاصيل الزراعية؛ بهدف جعلها مقاومة لعدد من أهم المسببات المرضية (جدولا 11-15، و 11-16، و 11-17).

جدول (11-15): حالات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية التى تم اختبارها حقليًّا فى الولايات المتحدة حتى عام 1998 (عن Chopra وآخرين 1999).

المحصول	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	الجين	مصدر الجين
التفاح	Erwinia amylovora	Attacin	Hyalophora cecropia
	E. amylovora	Lysozyme	الدجاج
	E. amylovora	Cecropin B	H. cecropia
الخيار	Phytophthora	Glucanase	التبغ
	Phytophthora	Osmotin	التبغ
	Phytophthora & Verticillium	Chitinase	التبغ
الخس	Downy mildew	Osmotin	التبغ
	Downy mildew	Chitinase	التبغ
	Downy mildew	Glucanase	التبغ
الكنتالوب	Phytophthora	Chitinase	التبغ

	Phytophthora	**Glucanase**	التبغ
	Phytophthora	**Osmotin**	التبغ
البطاطس	**Rhizoctonia solani**	**Glucanase**	التبغ
	R. solani	**Chitinase**	**Serratia marcescens**
	R. solani	**Glucanase**	التبغ
	Verticillium	**DRRG 49**	البسلة
	Corynebacterium sepedonicum	**Cecropin B**	**H. cecropia**
	E. carotovora	**Cecropin B**	**H. cecropia**
	Soft rot and Ring rot	**Lysozyme**	الدجاج
	Streptomyces scabies	**Cecropin B**	**H. cecropia**
	Soft rot	**Glucanase**	التبغ
الكوسة	**Mildew**	**Osmotin**	التبغ
	Mildew	**Chitinase**	التبغ
	Mildew	**Glucanase**	التبغ
التبغ	**Phoma**	**Glucanase**	البرسيم الحجازى
	Phoma	**Chitinase**	الأرز
	Rhizoctonia, Thelaviopsis	**Chitinase**	**S. marcescens**

جدول (11-15): حالات التحول الوراثى لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية التى تم اختبارها حقليًّا فى الولايات المتحدة حتى عام 1998 (عن Chopra وآخرين 1999).

المحصول	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين	الجين	مصدر الجين
	Botrytis cinerea	Stilbene synthase	العنب
	Rhizoctonia, Phytophthora	Glucanase	التبغ
الطماطم	Fungal post-harvest	Chitinase	S. marcescens
	Crown rot	Chitinase	S. marcescens
	Soft rot fungus	Polygalacturonase inhibitor	الكمثرى
	Powdery mildew	Chitinase	S. marcescens
	Botrytis	Chitinase	S. marcescens
	Alternaria solani	Chitinase	التبغ

جدول (11-16): النباتات المحولة وراثيًا التى أنتجت من مختلف المحاصيل الزراعية لمقاومة الأمراض الفطرية والبكتيرية حتى عام 1999 (عن Chawala 2000).

طبيعة المقاومة والمحصول	الجين	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين
بروتينات:		
التبغ	Bacterial chitinase from serratia marcescens	Altermaria longipes
	Bean chitinase gene	Rhizoctonia solani
	PR-1-a gene	Peronospora tabacina, parasitica var. Phytophthora nicotianae
	Chitinase	Sclerotinia sclerotiorum
	Chitinase	Rhizoctonia solani
	Chitinase and 1,3-β	Cercospora nicotinae

	Glucanase	
الطماطم	Chitinase and 1,3-β glucanase	Fusarium oxysporum lycopersici
Brassica napus	Chitinase	Rhizoctonia solani
Brassica napus var. oleifera	Chitinase	Cylindrosporium concentricum; Phoma lingam; Sclerotinia sclerotiorum
الأرز	Chitinase	Rhizoctonia solani
الجزر	Chitinase and 1,3-glucanase β	Alternaria dauci, Alternaria radicina, Cercospora carotae, Erysiphe heraclei

تابع جدول (11-16):

طبيعة المقاومة والمحصول	الجين	المسبب المرضى الذى يقاومه الجين
البطاطس	PR5	Phytophthora infestans
مضادات ميكروبية بروتينية:		
التبغ	Barley RIP (ribosome inactivating protein)	Rhizoctonia solani
الطماطم	Prohevein from Hevea brassiliensis	Trichoderma hamatum
التبغ	Defensin-Rs AFP2 from radish	Alternaria longipes
التبغ	Barley α thionin geme	Pseudomonas syringae pv tabaci, P. syringae pv syringae

التبغ	Cecropin	P. syringae pv tabaci
الأرز	Cecropin	Bacterial pathogen
البطاطس	Bacteriohage T-4 lysozyme	Erwinia carotovora subsp. atroseptia
التبغ	Hen egg white lysozyme (HEWL)	Botrytis cinerea, Verticillium alboatrum, Rhizoctonia solanum
التبغ	Lysozyme from human being	Pseudomonas syringae pv tabaci; Erysiphe cichoracearum
البطاطس	H2O2 gene for glucose oxidase	Verticillium dahlea, Phytophthora; Erwinia carotovora
فيتو ألاكسينات:		
التبغ	Stilbene synthase	Botrytis cinerea
Brassica napus	Stilbene synthase	--
الأرز	Stilbene synthase	Pyricularia oryzae

جدول (11-17): الأنواع النباتية التى حولت وراثيًّا لأجل تعزيز مقاومتها للأمراض الفطرية خلال الفترة من 1991 إلى 2002 (عن Punja 2004ب).

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًّا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
التعبير عن الإنزيمات المحللة			
البرسيم الحجازى	(Medicago sativa L,)	Alfalfa glucanase	Phytophthora megasperma
الجنسنج الأمريكى	(Panax quinquefolius L.)	Rice chitinase	لم يختبر
التفاح	(Malus ×domestica)	Trichoderma harzianum endochitinase	Venturia inaequalis

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
الشعير	(Hordeum vulgare L.)	Trichoderma endo-1,4-β-glucanase	لم يختبر
البروكولى	(Brassica oleracea var. italica)	Trichoderma harzianum endochitinase	Alternaria brassicicola
لفت الزيت	(Brassica napus L.)	Bean chitinase	Rhizoctonia solani
لفت الزيت	(B. napus L.)	Tomato chitinase	Cylindrosporium concentricum and Sclerotinia sclerotiorum

الجزر	(Daucus carota L.)	Tobacco chitinase	Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, and Sclerotium rolfsii
الأقحوان	[Dendranthema grandiflorum (Ramat.) Kitamura]	Rice chitinase	Botrytis cinerea
المرجية الزاحفة	(Agrostis palustris Huds.)	Elm chitinase-like protein	Rizoctonia solani
الخيار	(Cucumis sativus L.)	Petunia and tobacco chitiases	لم يتأثر أى من الفطرين: Colletotrichum lagenarium أو Rhizoctonia solani
الخيار	(C. sativus L.)	Rice chitinase	Botrytis cinerea
العنب	(Vitis vinifera L.)	Rice chitinase	Uncinula necator and Elsinoe ampelina

العنب	(V. vinifera L.)	Trichoderma harzianum endochitinase	Botrytis cinerea
البطاطس	(Solanum tuberosum L.)	Trichoderma harzianum endochitinase	Alternaria solani and Rhizoctonia solani
الأرز	(Oryza sativa L.)	Rice chitinase	Rhizoctonia solani
الأرز	(O. sativa L.)	Rice chitinase	Magnaporthe grisea
الورد	(Rosa hybrida L.)	Rice chitinase	Diplocarpon rosae
البتولا الفضى	(Betula pendula L.)	Sugarbeet chitinase	Pyrenopeziza betulicola
السورجم	[Sorghum bicolor (L.) Moench]	Rice chitinase	Fusarium thapsinum
الفراولة	(Fragaria ×ananassa Duch.)	Rice chitinase	Sphaerotheca humuli
التبغ	(Nicotinana tabacum L.)	Bean chitinase	Rhizoctonia solani

التبغ	(N. tabacum L.)	Peanut chitinase	لم يختبر
التبغ	(N. tabacum L.)	Serratia marcescens chitinase	Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Serratia marcescens chitinase	Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Streptomyces chitosanase	لم يختبر

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
التبغ	(N. tabacum L.)	Rhizopus oligosporus chitinase	Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum
التبغ	(N. tabacum L.)	Trichoderma harzianum endochitinase	Alternaria alternate, Botrytis cinerea, and Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Baculovirus chitinase	Alternaria alternate
التبغ	(N. tabacum L.)	Soybean glucanase	Phytophthora parasitica and Alternaria alternate

التبغ	(N. tabacum L.)	Tobacco glucanase	Phytophthora parasitica and Peronospora tabacina
التبغ	(N. tabacum L.)	Acidothermus celluloyticus endoglucanase	لم يختبر
التبغ	(N. tabacum L.)	Sugarbeet chitinase	Cercospora nicotianae
التبغ	(N. tabacum L.)	Tobacco chitinase	Cercospora nicotianae
التبغ	(N. tabacum L.)	Tobacco chitinase	Rhizoctonia solani
الطماطم	(Lycopersicon esculentum Mill.)	Wild tomato (L. chilense) chitinase	Verticillium dahliae races 1 and 2
القمح	(Triticum aestivum L.)	Barley chitinase	Blumeria graminis f. sp. tritici
القمح	(T. aestivum L.)	Barley chitinase	Blumeria graminis f. sp. tritici and Puccinia recondita f. sp. tritici

التعبير عن البروتينات ذات العلاقة بالتطفل المرضى			
لفت الزيت	(Brassica napus L.)	Pea chitinase, PR10.1 gene	Leptosphaeria maculans
لفت الزيت	(B. napus L.)	Pea defense response gene, defensin	Leptosphaeria maculans
الجزر	(D. carota L.)	Rice thaumatin-like protein	Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Tobacco osmotin	Phytophthora infestans
البطاطس	(S. commersonii Dun.)	Potato osmotin-like protein	Phytophthora infestans
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Pea PR10 gene	Verticillium dahliae
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Potato defense response gene STH-2	

			Phytophthora infestans
الأرز	**(O. sativa L.)**	**Rice thaumatin-like protein**	**Rhizoctonia solani**
الأرز	**(O. sativa L.)**	**Rice Rir1b defense gene**	**Magnaporthe grisea**
التبغ	**(N. tabacum L.)**	**Tobacco PR1a**	**Peronospora tabacina and Phytophthora parasitica**
التبغ	**(N. tabacum L.)**	**Tobacco osmotin**	**لم يؤثر فى Phytophthora parasitica var. nicotianae**

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
القمح	(T. aestivum L.)	Rice thaumatin-like protein	Fusarium graminearum
التعبير عن البروتينات والببتيدات والمركبات المضادة للكائنات الدقيقة			
Arabidopsis	(A. thaliana L.)	Mistletoe thionin viscotoxin	Plasmodiophora brassicae
Arabidopsis	(A. thaliana L.)	Arabidopsis thionin	Fusarium oxysporum
لفت الزيت	(B. napus L.)	Macadamia antimicrobial peptide	Leptosphaeria maculans
الجزر	(Daucus carota L.)	Human lysozyme	Erysiphe heraclei and Alternaria dauci

إبرة الراعى	(Pelargonium sp.)	Onion antimicrobial protein	Botrytis cinerea
المسترد الهندى	(Brassica juncea L.)	Havea chitin-binding lectin (hevein)	Alternaria brassicae
الحور	(Populus ×euramericana)	Antimicrobial peptide	Septoria musiva
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Alfalfa defensin	Verticillium dahliae
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Bacillus amyloliquefaciens barnase (RNase)	Phytophthora infestans
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Synthetic cationic peptide chimera	Fusarium solani and Phytophthora cactorum
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Human lactoferrin	لم يختبر

الأرز	(O. sativa L.)	**Maize ribosome-inactivating protein**	**لم يؤثر فى Magnaporthe grisea أو R. Solani**
الأرز	(O. sativa L.)	**Trichosanthes ribosome-inactivating protein**	**Pyricularia oryzae**
الأرز	(O. sativa L.)	**Wheat puroindoline peptide**	**Magnaporthe grisea and Rhizoctonia solani**
التبغ	(N. tabacum L.)	**Amaranthus hevein-type peptide, Mirabilis knottin-type peptide**	**لم يؤثر فى Alternaria longipes أو Botrytis cinerea**
التبغ	(N. tabacum L.)	**Radish defensin**	**Alternaria longipes**

التبغ	(N. tabacum L.)	Stinging nettle (Urtica dioica L.) isolectin	لم يختبر
التبغ	(N. tabacum L.)	Pokeweed antiviral protein	Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Synthetic magainin-type peptide	Colletotrichum destructivum and Peronospora tabacina
التبغ	(N. tabacum L.)	Sarcotoxin peptide from Sarcophaga peregrinea	R. Solani, Pythium aphanidermatum, and Phytophthora nicotianae
التبغ	(N. tabacum L.)	Barley ribosome-inactivating protein	Rhizoctonia solani

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
التبغ	(N. tabacum L.)	Maize ribosome-inactivating protein	Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Antifungal (killing) protein from Ustilago maydis infecting virus (dsRNA)	لم يختبر
التبغ	(N. tabacum L.)	Chloroperoxidase from Pseudomonas pyrrocinia	Colletotrichum destructivum
التبغ	(N. tabacum L.)	Synthetic antimicrobial peptide	Colletotrichum destructivum

التبغ	(N. tabacum L.)	Human lysozyme	Erysiphe cichoracearum
التبغ	(N. tabacum L.)	Insect antifungal peptides	Cercospora nicotianae
الطماطم	(L. esculentum Mill)	Radish defensin	Alternaria solani
القمح	(T. aestivum L.)	Barley ribosome-inactivating protein	Blumeria graminis
القمح	(T. aestivum L.)	Antifungal (killing) protein from Ustilago maydis infecting virus (dsRNA)	Ustilago maydis amd Tilletia tritici
القمح	(T. aestivum L.)	Aspergillus antifungal protein	Blumeria graminis f. sp. tritici and Puccinia recoindita f. sp. Tritici

التعبير عن الفيتوألاكسينات			
البرسيم الحجازى	(M. sativa L.)	Alfalfa isolavone O-methyltransferase	Phoma medicaginis
البرسيم الحجازى	(M. sativa L.)	Peanut resveratrol synthase	Phoma medicaginis
الشعير	(H. vulgare)	Grape stibene (resveratrol) synthase	Botrytis cinerea
العنب	(V. vinifera L.)	Grape stilbene (resveratrol) synthase	Botrytis cinerea
الأرز	(O. sativa L.)	Grape stilbene (resveratrol) synthase	Pyricularia oryzae
التبغ	(N. tabacum L.)	Synthetic magainin-type peptide	Peronospora tabacina

التبغ	**(N. tabacum L.)**	**Fusarium trichodiene synthase**	**لم يختبر**
التبغ	**(N. tabacum L.)**	**Grape stilbene (resveratrol) synthase**	**Botrytis cinerea**
الطماطم	**(L. esculentum Mill)**	**Grape stilbene (resveratrol) synthase**	**Phytophthora infestans**

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجيل المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
القمح	(T. aestivum L.)	Grape stilbene (resveratrol) synthase	لم يختبر
تثبيط المركبات الفطرية المسئولة عن الضراوة			
لفت الزيت	(B. napus L.)	Barley oxatate oxidase	لم يختبر
الحور	(Populus ×euramericana)	Wheat oxalate oxidase	Septoria musiva
الأرز	(O. sativa L.)	Rice HC-toxin reductase-like	Magnaporthe grisea

فول الصويا	(Glycine max L.)	Wheat oxalate oxidase (germin)	Sclerotina sclerotiorum
التبغ	(N. tabacum L.)	Fusarium trichothecene-degrading enzyme	لم يختبر
التبغ	(N. tabacum L.)	Mutant RpL3 gene for mycotoxin insensitivity	Fusarium graminearum mycotoxin
التبغ	(N. tabacum L.)	Wheat oxalate oxidase (germin)	لم يختبر
التبغ	(N. umbratica L.)	Tomato Asc-1 gene for insensitivity to fungal toxins	Alternaria alternate f. sp. lycopersici
الطماطم	(L. esculentum Mill.)	Bean polygalacturonase inhibiting protein	لم يؤثر في Fusarium oxysporum أو Botrytis cinerea أو Alternaria solani

الطماطم	(L. esculentum Mill.)	Pear polygalacturonase inhibiting protein	Botrytis cinerea
الطماطم	(L. esculentum Mill.)	Collybia velutipes oxalate decarboxylase	Sclerotinia sclerotiorum
تغيير المكونات النباتية			
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Cucumber peroxidase	لم يؤثر فى Fusarium sambucinum أو Phytophthora infestans
الطماطم	(L. esculentum Mill.)	Tobacco anionic peroxidase	لم يؤثر فى Fusarium oxysporum أو Verticillium dahliae
القمح	(T. aestivum L.)	Wheat germin (no oxalate oxidase activity)	Erysiphe blumeria

تنظيم الاستجابات الدفاعية النباتية			
Arabidaopsis	(A. thaliana L.)	Arabidopsis NPR1 protein	Peronospora parasitica
Arabidaopsis	(A. thaliana L.)	Arabidopsis ethylene-response-factor 1(ERF1)	Botrytis cinerea and Plectosphaerella cucumerina
لفت الزيت	(Brassica napus L.)	Tomato Cf9 gene	Leptosphaeria maculans
القطن	(Gossypium hirsutum L.)	Talaromyces	

تابع جدول (11-17):

الاستراتيجية التى اتبعت والنوع النباتى المحول وراثيًا		ناتج الجين المستعمل فى التحول الوراثى	الفطر الذى تمت مقاومته
التبغ	(N. tabacum L.)	flavus glucose oxidase	Rhizoctonia solani, and Verticillium dahliae
الفلفل	(Capsicum annuum L.)	Tobacco ethyelene-responsive protein	Phytophthora capsici
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Aspergillus niger-glucose oxidase	Phytophthora infestans, Alternaria solani and Verticillium dahliae
البطاطس	(S. tuberosum L.)	Tobacco catalase	Phytophthora infestans

البطاطس	(S. tuberosum L.)	Bacterial salicylate hydroxylase	Phytophthora infestans
التبغ	(N. tabacum L.)	Aspergillus niger glucose oxidase	Phytophthora nicotianae
التبغ	(N. tabacum L.)	Bacterial salicylate hydroxylase	زيادة القابلية للإصابة بكل من: Phytophthora parasitica, Cercospora nicotianae, Peronospora parasitica
التبغ	(N. tabacum L.)	Bacterial salicylic acid-generating enzymes	Oidium lycopersici

Pythium sylvaticum	Arabidopsis ethylene-insensitivity gene	(N. tabacum L.)	التبغ
Phytophthora parasitica	Phytophthora cryptogea elicitor (β-cryptogein)	(N. tabacum L.)	التبغ
Phytophthora parasitica, Thielaviopsis basicola, Botrytis cinerea, and Erysiphe cichoracearum	Phytophthora cryptogea elicitor (cryptogein)	(N. tabacum L.)	التبغ
Verticillium dahliae	Enterobacter ACC deaminase	(L. esculentum Mill)	الطماطم

التعبير عن أكثر من جين			
التفاح	(Malus ×domestica)	Trichoderma atroviride endochitinase + exochitinase	Venturia inaequalis
الجزر	(D. carota L.)	Tobacco chitinase + β-1-3 glucanase, osmotin	Alternaria dauci, A. radicina, Cercospora carotae, and Erysiphe heraclei
التبغ	(N. tabacum L.)	Barley chitinase + β-1,3-glucanase, or chitinase + ribosome-inactivating protein	Rhizoctonia solani
التبغ	(N. tabacum L.)	Rice chitinase + alfalfa glucanase	Cercospora nicotianae
الطماطم	(L. esculentum Mill)	Tobacco chitinase + β-1,3-glucanase	Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici

الهندسة الوراثية لمقاومة النيماتودا

إن من أهم جينات المقاومة الطبيعية للنيماتودا التى استعملت أو يمكن استعمالها فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة النيماتودا، ما يلى:

1 – الجين Hs1pro-1:

كان من أوائل الـ R-genes الفعالة ضد النيماتودا – والتى أمكن عزلها والاستفادة منها عن طريق تقنيات الهندسة الوراثية – الجين Hs1pro-1 الذى عُزِلَ من النوع Beta procumbens، وهو نوع برى من البنجر يكسبه هذا الجين مقاومة للنيماتودا المتحوصلةHeterodera schachtii. وقد أدى نقل هذا الجين إلى سلالات بنجر قابلة للإصابة بتلك النيماتودا إلى جعلها مقاومة لها.

2 – الجين Mi:

كان جين المقاومة الثانى فى الدراسة الـ Mi gene المسئول عن مقاومة الطماطم لكل من Meloidogyne incognita، و M. arenaria، و M. javanica. وقد أوضحت الدراسات تواجد ثلاثة مواقع على دنا الطماطم بها تماثل فى هذا الـ R-gene، تبين أن إحداها كان جينًا كاذبًا pseudogene، بينما كان الآخران جينين محتملين نشطين أعطيا الرمزين Mi.1.1، و Mi.1.2، وتبين أن الثانى (Mi.1.2) هو الذى يكسب النباتات المحولة وراثيًّا به المقاومة للنيماتودا. وتبين أيضًا أن هذا الجين يكسب النباتات – كذلك – مقاومة ضد من البطاطس Macrosiphum euphorbiae.

3 – الجين Hero:

تم عزل الجين Hero من الطماطم، وهو جين يكسب النباتات مستوى واسعًا من المقاومة لنيماتودا البطاطس المتحوصلة، حيث يعطى 95% مقاومة ضد Globodera rostochiensis، وأكثر من 80% ضد G. pallida. يقع الجين على الكروموسوم الرابع فى منطقة تحتوى على 14 جينًا متماثلاً homologous genes، منها 8 تبدو كجينات فعالة ونشطة. يتماثل الجين Hero فى نحو 32% من الأحماض الأمينية التى يشفر لها مع الجين Mi.1.2، ولكن بنسبة تماثل قدرها 21% فقط مع الجين Gpa2 (عن Atkinson وآخرين 2003).

4 – الجين Cre3 لمقاومة النيماتودا Heterodera avenae فى القمح.

5 – الجين Gro1 لمقاومة نيماتودا الحوصلات بالبطاطس.

6 – من بين استراتيجيات مقاومة النيماتودا – كذلك – هندسة التعبير الجينى لمركبات سامة للنيماتودا، مثل المركب cystatin – وهو proteinase inhibitor من الأرز – الذى أدى نقل الجين المسئول عن إنتاجه إلى نبات A. thaliana إلى إكسابه مقاومة لكل من نيماتودا الحوصلات ونيماتودا تعقد الجذور (عن Bent & Yu 1999).

7 – مثبطات إنزيم البروتييز كمضات للنيماتودا:

تتواجد الأنواع الأربعة المعروفة لمثبطات إنزيم البروتييز protease (وهى: الـ cysteine، والـ serine، والـ aspartyl، والـ metallo) فى النباتات، وغالبًا ما تتراكم فى أنسجة نباتية معينة استجابة للجروح التى تحدثها آكلات الأعشاب. كذلك تتراكم مثبطات البروتييز فى عديد من البذور، مثل الأرز، والذرة، ودوار الشمس، واللوبيا، ويلعب بعضها دورًا فى التحكم فى الإنبات. وتشكل تلك المثبطات مكونًا طبيعيًّا يدخل ضمن غذاء الإنسان، والحيوانات الزراعية، والثدييات الأخرى، والطيور. وتتغلب بعض الثدييات على التأثير الذى تحدثه تلك المثبطات بزيادة إفرازاتها الطبيعية من الإنزيم عند غذائها على علائق غنية بها.

ومن أبرز الأمثلة على مثبطات البروتييز السيرين serine المثبط لإنزيم التربسن trypsin، والذى يتواجد فى بذور اللوبيا (يعطى الرمز CpTI). وجد أن التعبير عن هذا المركب CpTI فى البطاطس المحولة وراثيًّا يؤثر فى عملية التكاثر الجنسى للنيماتودا المتطفلة Globodera pallida فى بداية الإصابة؛ مما يؤدى إلى سيادة أعداد الذكور الأصغر حجمًا والأقل ضررًا (Atkinson وآخرون 2003).

8 – يجرى الباحثون محاولات لتحويل النباتات وراثيًّا لأجل جعلها أقل صلاحية لتغذية النيماتودا وتطورها داخل جذور النباتات بعد اختراقها لها، كما هو الحال بالنسبة لاستخدام جين التبغ TobRB7 الذى يؤثر – خاصة – على الخلايا العملاقة التى يتحتم تكوينها لاستمرار النمو الطبيعى للنيماتودا (عن Bent & Yu 1999).

وبالإضافة إلى جينات المقاومة الطبيعية للنيماتودا، فقد استعمل – كذلك – فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة النيماتودا جينات خاصة بإنتاج البروتينات البللورية من بعض سلالات البكتيريا Bacillus thuringiensis؛ الأمر الذى سنتناوله بالتفصيل فى الفصل التالى من هذا الكتاب.

القسم الثاني

التربية لمقاومة الآفات الأخرى

الفصل الثانى عشر

التربية لمقاومة الحشرات والأكاروسات

ندمج مناقشتنا عن التربية لمقاومة الحشرات والأكاروسات معًا فى هذا الفصل؛ لأنهما غالبًا ما يُذكران معًا فى الدراسات العلمية الاستعراضية التى تتناول هذا الموضوع.

مقدمة

تقدر الخسائر المباشرة التى تسببها الحشرات بنحو 14% من الإنتاج العالمى لمختلف المحاصيل الزراعية. أما الخسائر المباشرة وغير المباشرة (مثل نقل الحشرات للفيروسات والأضرار التى تحدثها الحشرات للحبوب المخزنة) للحشرات والحيوانات الأخرى بمختلف أنواعها .. فربما تزيد على 25% من المحصول العالمى لكافة النباتات المزروعة (عن Russell 1987). وبالرغم من ذلك .. فحتى منتصف القرن الماضى لم تحظ التربية لمقاومة الحشرات، والأكاروسات بالقدر الذى تستحقه من الاهتمام الذى يتمشى مع ما تحدثه من خسائر. فمثلا .. يذكر Stoner (1970) أن غالبية الأبحاث التى نشرت عن المقاومة للحشرات فى محاصيل الخضر - حتى عام 1970 - لم تتعد تسجيل اختلافات بين الأصناف والسلالات المزروعة فى مقاومتها للحشرات. ولم يُنْتِجْ وينشر مربو الخضر زراعة أى صنف كانت فيه المقاومة للحشرات إحدى صفاته الهامة باستثناء صنف البطاطس سيكويا Sequoia الذى كان مقاومًا لكل من الخنفساء البرغوثية ونطاطات الأوراق؛ إلا أن محاصيل الحقل حظيت بعناية أكبر نسبيًّا؛ حيث أُنتجت بعض الأصناف المقاومة لحشرات معينة.

ويعتقد أن التأخير فى إنتاج أصناف من الخضر مقاومة للحشرات كان مرده إلى ما يلى:

1 - توفر عديد من المبيدات الحشرية الفعالة.

2 - عدم اشتراك علماء الحشرات مع مربى الخضر فى جهود التربية لإنتاج أصناف مقاومة كما حدث بالنسبة للتربية لمقاومة الأمراض.

3 - صعوبة تداول كائنين متقدمين - هما النبات والحشرة - فى آن واحد.

كانت أول حالة موثقة ببحث منشور عن المقاومة للحشرات فى النباتات تلك التى ذكرها Havens عام 1782 بخصوص مقاومة صنف القمح الأمريكى Underhill لذبابة هسّيان Hessian fly (وهى: Mayetiola destructor). كذلك وجد Lindley فى عام 1831 صفة المقاومة لمن التفاح الصوفى Eriosma lanigerum فى صنف التفاح الإنجليزى Winter Majetin، وهو الذى مازال يحتفظ بمقاومته حتى الآن.

ومن أكبر الإنجازات المبكرة فى مجال المكافحة الوراثية للحشرات تلك الخاصة بمقاومة حشرة الفلّوكسيرا Phylloxera vitifoliae فى الأعناب الفرنسية، حيث ظهرت تلك الآفة التى تنتشر فى أمريكا الشمالية - فى عام 1861 فى فرنسا وانتشرت منها إلى مزارع الكروم الأوروبية ودول حوض البحر الأبيض المتوسط؛ لدرجة أن صناعة النبيذ الفرنسية باتت على وشك الانهيار فى عام 1888، إلا أنه أمكن مكافحة الحشرة بنجاح بحلول عام 1890 بعد تطعيم كروم العنب الفرنسية على أصول مقاومة للحشرة من أمريكا الشمالية.

كذلك تبين منذ عام 1817 مقاومة السورجم Sorghum vulgare لنطاط الأعشاب Melanoplus spp. بدرجة أكبر بكثير من مقاومة الذرة له.

ومن الأمثلة الناجحة الأخرى لمقاومة الحشرات التوسع فى زراعة القطن المقاوم لنطاطات الأوراق من الجنس Empoasca فى جنوب أفريقيا فى آلاف الأفدنة بإكثار نبات واحد وجد مقاومًا لتلك النطاطات فى عام 1935، وقد أصبح نسل هذا النبات صنفًا جديدًا أُعطى الاسم U4.

وقد تكرر الأمر ذاته فى الهند منذ عام 1941 بالتوسع فى زراعة أصناف القطن الزغبية الملمس المقاومة للجاسيد Empoasca devastans، مثل Punjab 45، و L.S.S.، و 289F (عن Jenkins 1981، و Tingey 1981، و Panda & Kush 1995).

هذا .. ويمكن الرجوع إلى Vavilov (1951) بشأن مصادر المقاومة للحشرات فى النباتات التى كانت معروفة قبل عام 1935.

ولم يبدأ الجهد العلمى المنظم فى مجال التربية لمقاومة الحشرات إلاّ فى عشرينيات القرن العشرين، وذلك حينما قام R. H. Painter ببرنامجه الكلاسيكى الناجح لأجل تربية أصناف من القمح مقاومة لذبابة هسّيان، وهى الجهود التى حولت تلك الذبابة من خطر داهم على إنتاج القمح فى الولايات المتحدة ابتداء من حوالى 1779 - حينما بدأ ظهورها فى لونج أيلاند - إلى آفة لا خطورة منها مع زراعة الأصناف المقاومة على نطاق واسع منذ منتصف القرن العشرين، إلى درجة أنه كان من الصعب العثور على الحشرة فى عام 1969. ولقد بلغ عدد الأصناف التجارية المقاومة للحشرة من القمح أكثر من 30 صنفًا بحلول عام 1980.

كذلك أُنتج بحلول عام 1990 أكثر من 12 صنفًا من القمح مقاومًا لذبابة (زنبور) ساق الحنطة المنشارى wheet stem sawlfly؛ لتتوفر بذلك الوسيلة الوحيدة لمقاومة تلك الآفة فى القمح (عن Panda & Kush 1995).

وقد أوضح حصر لجهود التربية لمقاومة الحشرات أنه خلال الفترة من 1966 - 1977 نشر أكثر من 150 بحثا فى أمريكا الشمالية تناولت مختلف جوانب الموضوع فى 23 محصولاً من الخضر مقابل 50 بحثا على الفاكهة شملت تسعة أنواع محصولية فقط. أما المحاصيل الحقلية فقد شهدت برامج نشطة للتربية لمقاومة الحشرات فى كل من البرسيم الحجازى، والفول السودانى، وفول الصويا، والقطن، والأرز، والقمح، والشوفان، والشعير، والشيلم، وذرة المكانس (السورجم)، وقصب السكر (Jenkins 1981).

وكما أسلفنا .. فإن صنف البطاطس سيكويا Sequoia هو صنف الخضر الوحيد الذى أنتج - حتى عام 1970 - وكانت مقاومة الحشرات إحدى صفاته الهامة، حيث كان مقاومًا لكل من الخنفساء البرغوثية ونطاطات الأوراق (عن Stoner 1970)، إلا أن جهود التربية لمقاومة الحشرات والأكاروسات فى الخضر كانت سريعة ومتلاحقة بعد ذلك، حيث أُنتجت - على سبيل المثال - السلالات والأصناف المقاومة التالية (عن Tingey 1980، و Schwarts & Hamel 1980).

المحصول	الصنف أو السلالة	الحشرات والأكاروسات التى تقاومها
اللوبيا	CR 17- 1- 13	خنفساء بذور اللوبيا
	CR - 13 - 1	
	CR 22 - 2 - 21	
	W- 13 & W- 178	عديد من حشرات التربة
البطاطا	Jewel	الخنفساء البرغوثية
الطماطم	Kewalo	العنكبوت الأحمر
اللفت	Charlestowne	من اللفت
	Roots	

ويقدر أنه بحلول عام 1990 كان قد أُنتج بالفعل أكثر من 200 صنف من مختلف المحاصيل الزراعية تحمل مقاومة لنحو خمسين نوعًا من الحشرات، وينتشر استعمالها فى الزراعة التجارية (عن De Ponti & Mollema 1992).

وفيما مضى .. كان المزارعون مترددين فى استخدام الأصناف المقاومة للحشرات كبديل للمكافحة الكيميائية، لكن مع ازدياد الرقابة على استخدام المبيدات، وتعاظم الشروط التى يتعين الالتزام بها عند اتباع المكافحة بالمبيدات .. أصبح استخدام الأصناف المقاومة للحشرات يلقى قبولا متزايدًا لدى كل من المنتج، والمستهلك، والمشرِّع على حد سواء. وفى الدول النامية، حيث ربما لا تتوفر المبيدات المناسبة بالأسعار وفى الوقت المناسب للمكافحة .. فإن زراعة الأصناف المقاومة للحشرات يشكل عنصرًا هامًّا فى نجاح الزراعة وخفض نفقات الإنتاج.

وغنى عن البيان أن الاستثمار فى مجال التربية لمقاومة الحشرات ذو عائد مجز؛ فمثلا .. قدرت تكاليف برامج التربية التى أجريت لإنتاج أصناف من القمح مقاومة لذبابة هسّيان Hessian Fly، وزبنور القمح المنشارى Wheat Stem Sawfly، ومِنَ البرسيم الحجازى لمقاومة منٌ البرسيم الحجازى المبقع، والذرة لمقاومة حفار ساق الذرة الأوروبى .. قدرت بنحو 9.3 مليون دولار. وفى المقابل .. بلغ التوفير الناتج من زراعة هذه الأصناف حوالى 308 ملايين دولار سنويًّا، أو أكثر من ثلاثة بلايين دولار على مدى عشر سنوات، وهى نسبة عائد تبلغ نحو 300 : 1 (عن Tingey 1981).

الوضع التقسيمى والأهمية النسبية للحشرات والأكاروسات

تنتمى الحشرات والأكاروسات إلى قبيلة المفصليات Phylum Arthopoda. ويزيد عدد الأنواع التى تضمها تلك القبيلة عما يوجد فى أية قبيلة أخرى. تتوزع هذه الأنواع على ثلاثة أقسام Classes رئيسية (هى: Myriapoda، و Arachnide، و Insecta) تضم - فيما بينها - جميع الأنواع التى تعتبر الآفات الرئيسية للمحاصيل المزروعة، ولكنها تضم كذلك عددًا من الأنواع النافعة. ونذكر - فيما يلى - بيان بهذه الأقسام الثلاثة.

أولاً: Class Myriapoda

يضم هذا القسم الحيوانات التى تعرف باسم Millipedes، وهى تتغذى على النباتات، خاصة بنجر السكر، والبسلة، والفاصوليا، والجزر، والبطاطس، ولم تعط هذه الآفات أهمية تذكر فى مجال التربية للمقاومة؛ لأن أضرارها قليلة نسبيًّا.

ثانيًا: Class Arachnida

يضم هذا القسم الأكاروسات والعناكب Mites، التى يعد بعضها من أكثر الآفات التى تحدث أضرارًا للنباتات مثل العنكبوت الأحمر Red Spider Mite (أو العنكبوت ذات البقعتين Two Spotted Mite) الذى يسمى علميًّا Tetranychus urticae. تتغذى هذه الآفة على مدى واسع جدًّا من الأنواع النباتية (مثل: الفاصوليا، والطماطم، والقرعيات، والقطن، وفول الصويا .. وغيرها) حيث تقوم بامتصاص العصارة من السطح السفلى للأوراق. وفى الإصابات الشديدة تصبح الأوراق مرقشة وصفراء، أو برونزية اللون.

تكافح العناكب فى الحقل عادة بالرش بالمبيدات الأكاروسية Acaricides التى تشمل عديدًا من المركبات العضوية الفوسفورية. وقد أدى استخدام هذه المبيدات على نطاق واسع لعدة سنوات إلى ظهور سلالات من العناكب مقاومة لها، علما بأن السلالة المقاومة لمبيد ما تكون مقاومة كذلك لجميع المبيدات الأخرى التى من نفس المجموعة. ولذا .. اتجه الاهتمام نحو الوسائل الأخرى لمقاومة الآفة مثل المكافحة البيولوجية، وتربية الأصناف المقاومة لها.

ففى مجال المكافحة البيولوجية .. استخدمت أنواع أخرى من العناكب المفترسة التى تنتمى للجنس Phytoseilus spp.، وتعيش على افتراس عناكب أخرى مثل العنكبوت الأحمر. وقد أعطت هذه المفترسات نتائج جيدة تحت ظروف البيوت المحمية عندما أدخلت فيها فى الوقت المناسب، الذى يكون قبل تكاثر الآفة بفترة قصيرة، ولكن الأمر يتطلب عادة تزويد الصوبة الواحدة عدة مرات بالمن المفترس ليمكن الحصول على مكافحة تامة؛ الأمر الذى يصعب تنفيذه على نطاق واسع.

أما فى مجال التربية للمقاومة .. فقد وجدت اختلافات وراثية كبيرة بين الأصناف النباتية فى قابليتها للإصابة بمختلف العناكب، فمثلا:

1 - وجدت اختلافات وراثية بين أصناف الـ Black Current فى قابليتها للإصابة بالأكاروس Cecidophyopsis ribis (أو عنكبوت الثآليل Gall Mite)، وتبين أن المقاومة يتحكم فيها جين واحد سائد أعطى الرمز Ce، أكسب هذا الجين النباتات مقاومة ضد فيرس Blackcurrent Reversion Virus الذى ينتقل بواسطة هذا الأكاروس.

2 - اكتشفت مصادر فى القطن لمقاومة كل من العنكبوت الأحمر العادى T. urticae، والعنكبوت الأحمر الصحرواى T. desertorum.

3 - اكتشفت كذلك أصناف من فول الصويا مقاومة للعنكبوت الأحمر العادى.

وسنأتى خلال هذا الفصل على ذكر أمثلة لحالات أخرى للمقاومة. وجدير بالذكر أن الأكاروسات تتمتع بقدرة فائقة على تكوين سلالات مقاومة للمبيدات، لذا .. فإنه من المنتظر ظهور سلالات مماثلة قادرة على كسر مقاومة الأصناف المقاومة.

ثالثًا: Class Insecta

يضم هذا القسم جميع الحشرات المعروفة موزعة على ثلاثة تحت أقسام كما يلى:

1 - Sub class Apterygota:

يضم حشرات بدائية عديمة الأجنحة معظمها عديم الأهمية من الوجهة الزراعية. ومن أهمها الـ Springtails، وهى الحشرات التى تتبع رتبة Collembola التى يشيع وجودها فى معظم الأراضى، محدثة أحيانًا أضرارًا بجذور بنجر السكر، لكن معظمها يفيد فى المحافظة على خصوبة التربة. تكافح هذه الحشرات - عند الضرورة - بالمبيدات المناسبة، ونظرا لقلة أهميتها .. فإنها لم تلق أى اهتمام من جانب مربى النباتات.

2 - Sub Class Exopterygota:

يضم حشرات مجنحة فيها الحوريات (nymphs) عبارة صورة مصغرة للحشرات البالغة (Miniature Adults)، ويشتمل على عدد كبير من أشد الآفات فتكًا بالمحاصيل الزراعية مثل: الجراد، والمن، ونطاطات الأوراق، والتربس. وتصل الحوريات إلى طور الحشرة البالغة خلال سلسلة من المراحل الانسلاخية التى يطلق عليها اسم Instars.

يشتمل تحت القسم Exopterygota على 16 رتبة، ولكن أكثر الآفات أهمية تنتمى إلى ثلاث رتب فقط هى:

أ - رتبة مستقيمة الأجنحة Orthoptera:

تضم هذه الرتبة الأنواع المختلفة من الجراد، وهى حشرة تتغذى على معظم النباتات الخضراء التى تجدها فى طريقها أثناء ترحالها. وقد وجد فى أمريكا الجنوبية أن صنف الذرة Armago كان مقاومًا لنوع الجراد Schistocera paranesis، وأن صفة المقاومة يتحكم فيها جين واحد متنح.

وبرغم أنه لم تجر محاولات جادة للبحث عن مصادر لمقاومة الجراد فى المحاصيل الأخرى، إلا أن الأمر يستحق الدراسة. ومن الصفات الهامة التى يتعين أخذها فى الحسبان: مدى استساغة الجراد للمحصول، ومدى قدرة المحصول على استعادة نموه سريعًا بعد تعرضه لأضرار تغذية الجراد عليه.

ب - رتبة هدبية الأجنحة Thysanoptera:

تضم هذه الرتبة التربس الذى يعد من الآفات الحشرية الهامة، وينقل للطماطم فيرس الذبول المتبقع.

جـ - رتبة نصفية الأجنحة Hemiptera:

تضم هذه الرتبة حشرات صغيرة ذات أجنحة شفافة وأجزاء فم ثاقبة ماصة، والتى منها: المنّ، وبق النباتات Plant Bugs، ونطاطات الأوراق. وقد أجريت عديد من برامج التربية لمقاومة المن فى عديد من المحاصيل، منها: النجيليات، والصليبيات، والذرة، والبطاطس، وبنجر السكر. كما أجريت كذلك دراسات على التربية لمقاومة الجاسيدز Jassids، ونطاطات الأوراق فى عديد من المحاصيل، مثل: القطن ، والأرز.

3 - Sub class Endopterygota:

يضم أنواعًا حشرية تنمو فيها الأجنحة داخل جسم الحشرة، وتكوّن فيها الحشرات غير المكتملة النمو يرقات لا تشبه الحشرات البالغة فى الشكل أو السلوك، ويحدث فيها الانسلاخ الكامل على ثلاث مراحل، كما يلى:

أ - تفقس البيضة إلى يرقة نشطة عديمة الأجنحة، يطلق عليها عادة اسم Grub، فيما عدا فى رتبة حرشفية الأجنحة Lepidoptera، حيث تسمى Caterpillar.

ب - تنمو اليرقة إلى عذراء عند اكتمال نموها، وتلك مرحلة سكون، تتغير خلالها الحشرة من يرقة إلى حشرة كاملة. يطلق على العذارى اسم Pupa، فيما عدا فى رتبة حرشفية الأجنحة حيث تسمى Chrysalis.

جـ - تعطى العذراء الحشرة الكاملة التى تكون مجنحة عادة، وهى التى تتكاثر وتنتشر.

يشتمل تحت قسم Endopterygota على 11 رتبة، تضم عددًا كبيرًا من الحشرات الضارة والحشرات النافعة، ولكن أكثر الحشرات الضارة منها تنتمى إلى أربع رتب هى:

أ - رتبة غمدية الأجنحة Coleoptera (الخنافس Beetls، والسوس Weevils).

ب - رتبة حرشفية الأجنحة Lepidoptera (الفراشات Butterfiles، والـ Moths).

جـ - رتبة غشائية الأجنحة Hymenoptera (الذباب المنشارى Sawflies).

د - رتبة ذات الجناحين Dipera (الذباب Flies).

وقد أجريت برامج تربية لمقاومة بعض أنواع السوس، مثل القطن المقاوم للـ Boll Weevil. وتتوفر المقاومة للخنافس فى النجيليات، كما فى القمح والشعير ضد خنفساء أوراق الحبوب (Oulema melanopus) التى تضع إناثها بيضا أقل عددًا على الأصناف المقاومة، ويعيش عدد أقل من يرقاتها على تلك النباتات.

وتعمل الشعيرات الغزيرة التى توجد على أوراق وسيقان بعض النباتات على إعاقة عديد من الحشرات الحرشفية الأجنحة Lepidopterus عن وضع بيضها. ولذا .. فإن الانتخاب لزيادة كثافة تلك الشعيرات يفيد فى تقليل الضرر الذى تحدثه هذه الحشرات.

وكانت حشرة Wheat Stem Sawfly (Cephus cinctus) بالغة الخطورة فى أمريكا الشمالية، إلى أن أنتجت الأصناف المقاومة، ونشرت زراعتها على نطاق واسع. تتميز هذه الأصناف بأن سيقانها مصمتة Solid لا تتعرض للأضرار التى تحدثها يرقات الحشرة بالحزم الوعائية، كما يحدث فى الأصناف القابلة للإصابة.

وتتوفر حالات قليلة - لكنها هامة - من المقاومة ضد الذباب (رتبة ذات الجناحين)، مثل مقاومة القمح لذبابة هسّيان Hessian Fly (Mayetiola destructor).

وتشتمل تحت رتبة Apocrita على الطرز المجنحة مثل النحل والزنابير، وكذلك الحشرات التى فقدت أجنحتها أثناء تطورها مثل النمل. ومعظم حشرات هذه التحت رتبة نافعة؛ حيث تفترس الحشرات الضارة، أو تتطفل عليها، والقليل منها ضار بالمحاصيل الزراعية. ومن أمثلة الضار منها النمل قاطع الأوراق Leaf Cutter Ants. تُحدث هذه الحشرة أضرارًا كبيرة فى أمريكا الجنوبية حيث تعيش على أجزاء الأوراق التى تقطعها من النباتات، وتحملها إلى جحورها لتنمو عليها الفطريات التى تتغذى هى بدورها عليها. وهى تكافح برش الأوراق بالمبيدات الفطرية المناسبة؛ فلا تنمو عليها الفطريات، فيموت النمل جوعا. ويعتقد أنه من الصعب التربية لمقاومة حشرة كهذه (عن Russell 1987).

التقييم للمقاومة

يلزم لأجل إجراء اختبارات التقييم لمقاومة الحشرات والأكاروسات بصورة سليمة التعرف - أولاً - على مختلف العوامل التى يمكن أن تؤثر فى نتائج عملية التقييم.

العوامل المؤثرة فى المقاومة

تتأثر المقاومة للحشرات فى النباتات بعديد من العوامل، كما يلى:

أولاً: العوامل النباتية

من أهم العوامل النباتية التى تؤثر فى المقاومة للحشرات، ما يلى:

1 - عمر النسيج النباتى:

تختلف شدة المقاومة للحشرات - كثيراً - باختلاف عمر النسيج النباتى الذى يتعرض للإصابة؛ ففى بعض الحالات تزداد شدة المقاومة فى المراحل المبكرة من النمو عما فى المراحل المتأخرة؛ بينما يحدث العكس فى حالات أخرى ولو فى نفس النوع النباتى. فمثلا .. تكون المقاومة لحفار الذرة الجنوب غربى **Diatraea grandiosella** وحفار الذرة الأوروبى **Ostrinia nubilalis** - فى أصناف الذرة المقاومة - أعلى فى مراحل النمو الخضرية عما يليها. كذلك تزداد مقاومة نباتات السورجم الصغيرة لكل من المن **Rhopalosiphum maidis** ونطاطات النبات **Peregrinus maidis** والجراد المهاجر **Locusta migratoria migratorides** عن النباتات الأكبر عمرًا. وتحتوى أوراق الأقحوان الصغيرة - فى الأصناف المقاومة للعنكبوت الأحمر **Tetranychus urticae** - على تركيزات أعلى من الفينولات الأحادية والمتعددة عما تحتويه الأوراق الأكبر عمرًا التى تكون أقل مقاومة.

وعلى خلاف ما تقدم بيانه، فإن مقاومة الأرز لكل من نطاط النبات البنى Nilaparvata lugens ونطاط الأوراق الأخضر Nephotettix virescens تكون أكثر وضوحًا فى الأنسجة الأكبر عمرًا. ويحدث الأمر ذاته فى كل حالات: مقاومة الطماطم لخنفساء كلواردو Leptinotarsa decemlineata، والذرة السكرية لدودة كيزان الذرة Heliothis zea، والشعير لنوع المن Rhopalosiphum padi.

2 - نوع النسيج النباتى:

نجد أن النموات القمية الصغيرة الغضة تكون - عادة - أكثر تفضيلاً لتغذية الحشرات. يحدث ذلك - على سبيل المثال - فى حالات تغذية كلا من: Heliothis zea، والعنكبوت الأحمر، ودودة فول الصويا القياسية Pseudoplusia includens على فول الصويا. هذا إلاّ أن العكس قد يحدث أحيانًا حيث تكون الأوراق العليا الغضة هى الأكثر مقاومة عن الأوراق السفلية، كما فى حالة مقاومة ذبابة البيوت المحمية البيضاء Trialeurodes vaporariorum فى الفلفل (عن Smith وآخرين 1994).

3 - المقاومة المستحَثة:

يمكن أن تُستحَث المقاومة للحشرات جراء تجريح ميكانيكى أو إصابة حشرية سابقة للنمو النباتى. وهذا الحث يمكن أن يحدث فى خلال ساعات من حدوث الضرر، بينما قد يستمر لعدة أيام. وفى بعض الأشجار الخشبية قد يستمر تأثير هذا الحث لثلاث سنوات.

ومن أمثلة ذلك أن تغذية دودة براعم التبغ H. virescens على نباتات القطن يستحث زيادة إنتاج النباتات للمركبات الفينولية التى تكون مضادة لديدان اللوز. كذلك فإن تغذية العنكبوت الأحمر على القطن تجعله أكثر مقاومة للدودة Spodoptera exigua.

4 - الإصابات المرضية بالنبات:

يمكن أن تصبح النباتات أكثر مقاومة للإصابات الحشرية جراء تعرضها للإصابة بمسببات مرضية ليست متوافقة معها.

ثانيًا: العوامل الحشرية

تتأثر شدة الإصابة الحشرية بعديد من العوامل الحشرية، مثل عمر الحشرة وجنسها، وتغذيتها السابقة لاختبار المقاومة، وجميعها عوامل يتعين أخذها فى الحسبان عند إجراء اختبارات التقييم للمقاومة، كما يلى:

1 - عمر الحشرة:

توجد علاقة طردية مباشرة بين عمر الحشرة واستهلاكها من النسيج النباتى الذى تقتات عليه؛ بما يتعين معه اختيار العمر الذى يعطى أفضل تمييز بين التراكيب الوراثية المقاومة وتلك التى تكون قابلة للإصابة.

2 - جنس الحشرة:

من المعروف أن الإناث تستهلك قدرًا أكبر من الغذاء عن الذكور؛ نظرًا لاحتياجاتها العالية من البروتين الذى يلزم لتكوين البيض الذى تضعه الأنثى.

3 - الظروف التى تتعرض لها الحشرة قبل استعمالها فى اختبار المقاومة:

يتعين إبعاد الحشرات التى استعملت فى دراسات تغذية عن غذائها مع توفير الماء لها لعدة ساعات قبل استعمالها فى اختبار المقاومة، وذلك إذا ما كانت اختبارات التغذية السابقة قد أجريت لفترة قصيرة، أما إذا كانت قد دامت لفترة طويلة، فإنه يتعين نقلها لتتغذى على نباتات قابلة للإصابة من العائل ذاته - المطلوب استخدامها فى اختباره - وذلك قبل إجراء اختبار المقاومة.

إن الأغذية المجهزة التى يمكن أن تُعطاها الحشرات أثناء تربيتها قد تُحدث تغيرات فى تفضيل الحشرة للغذاء؛ ومن ثم تؤثر فى نشاطها على الجيرميلازم المطلوب اختباره.

ثالثًا: العوامل البيئية

تؤثر مختلف العوامل البيئية على شدة الإصابة بالحشرات أو المقاومة لها، كما يلى:

1 - شدة الضوء ونوعيته:

نجد أن زيادة شدة الإضاءة تؤدى - على سبيل المثال - إلى زيادة مقاومة الطماطم لحشرة Manduca sexta (الـ tobacco hornworm)، إلا أن تعريض نباتات فول الصويا إلى الإضاءة بصورة دائمة يضعف مقاومتها لدودة الكرنب القيّاسة Trichoplusia ni، ويؤدى نقص شدة الإضاءة بصورة دائمة إلى إضعاف المقاومة الحشرية فى عديد من النباتات، مثل القمح، والبرسيم الحجازى، والسورجم، والذرة، وبنجر السكر، وفول الصويا (عن Smith وآخرين 1994)؛ فمثلاً .. تبين أن ضعف الإضاءة يفقد بعض أصناف القمح مقاومتها لحشرة Wheat Stem Sawfly، كما وجد أن التظليل يفقد بنجر السكر والبطاطس مقاومتهما لحشرتى من الخوخ الأخضر Myzus persicae وخنفساء كلورادو Leptinotarsa decemlieata على التوالى. وقد وجد فى حالة البطاطس أن التظليل يؤدى إلى خفض محتوى النموات الخضرية من الجليكوسيدات الاستيرودية Steroidal Glycosides التى تعرف بتأثيرها الضار على حشرة خنفساء كلورادو.

2 - درجة الحرارة:

قد لا تظهر مقاومة النباتات للحشرات فى درجات الحرارة الشديدة الانخفاض أو الشديدة الارتفاع؛ فنجد أن مقاومة الحبوب الصغيرة للحشرات تضعف فى درجات الحرارة الأعلى من المعدل الطبيعى للمحصول، وقد تحددت تلك العلاقة بين درجة الحرارة والمقاومة فى كل من الحالات التالية:

أ - مقاومة القمح لذبابة هسّيان Mayetiola destructor.

ب - مقاومة الشعير والسورجم للبقة الخضراء Schizaphis graminum.

جـ - مقاومة السورجم لمن القمح الروسى.

كذلك تنخفض شدة المقاومة الحشرية فى البرسيم الحجازى فى درجات الحرارة التى تقل بمقدار 10 - 15°م عن معدلاتها الطبيعية، ولكن تزداد المقاومة لمن البرسيم الحجازى المنقط - فى البرسيم الحجازى - عندما تتباين درجات الحرارة كثيراً ليلاً ونهارًا عما لو كانت النباتات نامية فى حرارة ثابتة تعادل متوسط الحرارة المتقلبة.

3 - خصوبة التربة والتسميد:

تؤدى زيادة معدلات التسميد الآزوتى إلى ضعف المقاومة ضد دودة ورق القطن فى عديد من النباتات، مثل الذرة، والحبوب الصغيرة، والفول السودانى، والبرسيم الحجازى، والطماطم، والسورجم. هذا إلا أن زيادة معدلات التسميد البوتاسى والفسفورى وزيادة مستوى الكالسيوم تؤدى إلى زيادة مقاومة البرسيم الحجازى لمن البرسيم الحجازى المنقط، والسورجم للبقة الخضراء. كما أن إضافة السيليكا أو الألومنيوم لبرنامج تسميد الأرز يؤدى إلى زيادة مقاومته لنطاط النبات Sogatella furcifera.

4 - الرطوبة النسبية:

للرطوبة النسبية أهمية خاصة فى مقاومة الحبوب المخزنة لحشرات المخازن (عن Smith وآخرين 1994).

ويستفاد مما تقدم ضرورة إجراء اختبارات التقييم للمقاومة فى ظروف بيئية متباينة حتى لا تنتخب نباتات تعتمد مقاومتها على توفر ظروف خاصة، ولا تظهر فيما عداها. وأفضل وسيلة لتحقيق ذلك هى أن تعرض النباتات لظروف بيئية مماثلة للظروف التى تتعرض لها النباتات فى الطبيعة؛ من حيث درجة الحرارة السائدة، والتباين بين درجتى حرارة الليل والنهار، وشدة الإضاءة، والرطوبة النسبية، وخصوبة التربة .. إلخ.

ويلاحظ أن اختبار النباتات داخل أقفاص خاصة عازلة cages يؤدى حتما إلى خفض الإضاءة التى تتعرض لها، وهو ما يلزم تجنبه.

ولمزيد من التفاصيل عن تأثير العوامل البيئية على المقاومة .. يراجع Tingey & Singh (1980).

اختيار الجيرمبلازم المناسب للتقييم للمقاومة

تؤخذ فى الحسبان عند اختيار الجيرمبلازم المناسب للتقييم للمقاومة للحشرات والأكاروسات الاعتبارات ذاتها التى أسلفنا بيانها تحت موضوع التقييم لمقاومة الأمراض.

وتتوفر مصادر طبيعية لمقاومة عديد من الحشرات والأكاروسات فى كثير من محاصيل الخضر كما يلى (عن Stoner 1970).

المحصول	الحشرات التى تتوفر مصادر لمقاومتها
البطاطس	من البطاطس، ومن الخوخ الأخضر، ونطاط أوراق البطاطس، وخنفساء البطاطس البرغوثية، وخنفساء كلورادو، والدودة السلكية.
الطماطم	الدروسوفيلا، والعنكبوت الأحمر، وصانعات الأنفاق، ومن البطاطس، وخنفساء التبغ البرغوثية، والذبابة البيضاء.
الذرة السكرية	دودة كيزان الذرة، وحفار ساق الذرة الأوروبية.
الصليبيات	من الكرنب، والفراشة ذات الظهر الماسى، والخنفساء البرغوثية المخططة، ومن الخوخ الأخضر.
الفاصوليا	خنفساء الفاصوليا المكسيكية، ونطاطات الأوراق، وتربس الفاصوليا.
فاصوليا الليما	نطاط أوراق البطاطس.
البسلة	من البسلة.
البصل	تربس البصل.
القرعيات	خنفساء الخيار المخططة، وخنفساء الخيار المنقطة، وحفار ساق الكوسة.
الخس	من جذور الخس.

ويعطى (Radcliffe & Lauer 1966) نتائج تقييم عدد كبير من أنواع الجنس Solanum - التى تكوِّن درنات - لمقاومة كل من منّ البطاطس، ومنّ الخوخ الأخضر.

ويظهر فى جدول (12-1) بيان بمصادر المقاومة لعدد من الحشرات الهامة فى بعض محاصيل الخضر من كل من أنواعها المنزرعة والبرية.

وإذا ما تتبعنا مصادر المقاومة لآفة معينة فى مختلف المحاصيل، فإننا نجد فى حالة الذبابة على سبيل المثال - أن المقاومة لها تتوفر فى عدد من المحاصيل الهامة، كما يلى:

1 - القطن:

تحمل أوراق القطن الملساء عددًا اقل من أفراد Bemisia tabaci عما تحمله الأوراق

جدول (12-1): مصادر المقاومة لبعض الحشرات فى بعض محاصيل الخضر (عن Barbour 1999).

النبات	النوع النباتى	الحشرة	الجيرمبلازم المقاوم
الكرفس اللفتى	Apium graveolens	Spodoptera exigua	PI223333
	var. "rapaceum"		
الكرفس البرى	A. chilense	Liriomyza trifolii	A73
	A. panul		A160
	A. prostratum		A230
	A. nodiflorium		PI279829
الجزر	Daucus carota	Lygus spp.	عدة أصناف
		Psila rosae	عدة أصناف

		Cavariella aegopodii	Berlikum
الخس	Lactuca sativa	Pemphigus bursarius	Imperial 45634-m
الخس البرى	L. virosa	Nasonovia ribisnigri	PIVT 280
		Myzus persicae	PIVT 280, various accessions
		Macrosiphum euphorbiae	عدة سلالات
	L. saligna	Trichoplusia ni	PI261653
	L. serriola		PI274372
	L. perennis		PI279684, PI253299, PI281876
الخيار	Cucumis sativus	Tetranychus urticae	Hybrid Long Green Pickle,
			Ohio M. R., Taipei No. 1,
			Robin 50, Aodai, PI220860, PI178885, PI163222, PI218036

الخيار البرى	C. africanus	T. urticae	عدة سلالات
	C. anguria		
	C. myriocarpus		
	C. angolensis	Trialeurodes vaporarorium	
	C. asper		
	C. deteri		
القاوون	Cucumis melo	Aphis gossypii	PI161375, PI164320, PI371795, PI414723, 90234 (from PI371795), Kanro makuwa, Ginsen makuwa, Shiroubi okayama, AR Hales Best Jumbo, AR5, AR Topmark
		Diabrotica spp.	91213 (from PI371795)
		Acalymma spp.	C922-174-B
		Liromyza sativa	PI282448, PI313970
الطماطم	Lycopersicon	أكثر من 12 نوعًا	حوالى 100 تركيب وراثى
	esculentum		
الطماطم البرية	عدة أنواع	أكثر من 20 نوعًا	أكثر من 50 سلالة

الزغبية، ويبدو أن توفر مجموعة من الصفات الظاهرية، وهى الأوراق الملساء الصغيرة الحجم التى تشبه فى شكلها أوراق البامية، مع النمو الخضرى المفتوح يمكن أن تقلل الإصابة بالذبابة البيضاء بنحو 75%. هذا .. وتتوفر فى أصناف القطن - بالفعل - اختلافات جوهرية فيما يمكن أن تحمله أوراقها من الذباب الأبيض تحت ظروف واحدة من شدة التعرض للإصابة، وهى اختلافات ترجع فى مجملها إلى أسباب مورفولوجية.

2 - الطماطم:

يعد النوعان Lycopersicon hirsutum، و L. pennellii مقاومين لذبابة البيوت المحمية البيضاء Trialeurodes vaporariorum وكذلك لذبابة القطن البيضاء B. tabaci؛ بسبب كثرة إفرازاتهما الغدية بكل من الأوراق والسيقان.

3 - الفلفل:

تتوفر اختلافات وراثية كبيرة فى مقاومة الأصناف التجارية لذبابة البيوت المحمية البيضاء، ويعد الصنف كاليفورنيا وندر من أشدها مقاومة.

4 - الخيار:

وجدت المقاومة لذبابة البيوت المحمية البيضاء - بدرجة عالية ومتجانسة فى ست سلالات من النوع البرى Cucumis metuliferus (عن De Ponti وآخرين 1990).

طرق التقييم للمقاومة

اعتبارات أولية

إن من أكثر خطوات التربية لمقاومة الحشرات صعوبة عملية التقييم للمقاومة، وهى التى يجب أن تجرى بطريقة تسمح بتعريض جميع النباتات المختبرة للحشرة المعنية بصورة متجانسة وبمستوى مناسب من الإصابة، حتى لا تفلت بعض النباتات من الإصابة فتُنتخب على أنها مقاومة، أو يُضار بعضها الآخر بشدة من جراء شدة كثافة التواجد الحشرى فتُصنَّف على أنها شديدة القابلية للإصابة.

ويتعين على المربى الذى يقوم بالتربية لمقاومة الحشرات - أو الأكاروسات - أن يكون ملمًا بالحقائق التالية:

1 - دورة حياة الآفة بالتفصيل، ليمكن التخطيط لإكثار الحشرة لإجراء اختبارات المقاومة.

2 - بيولوجى وسلوك الآفة، ليمكن التمييز بين المقاومة الوراثية وحالات الإفلات من الإصابة.

3 - طريقة التغذية، ليمكن تفهم ميكانيكية، أو طبيعية المقاومة.

4 - كيفية إحداث الحشرة للأضرار بالنبات، لأنه قد تتوفر جينات مختلفة تمنع حدوث أنواع مختلفة من الأضرار.

ويتعين عند إجراء اختبارات المقاومة أخذ الأمور التالية فى الحسبان:

1 - اختيار الكثافة المناسبة من الآفة لإجراء اختبارات التقييم، وهى التى تعطى أكبر قدر من التفريق بين النباتات المقاومة والنباتات القابلة للإصابة. فيجب ألا تقل كثافة الحشرات عن حد معين، وإلا لن يمكن التعرف على عديد من التراكيب الوراثية القابلة للإصابة، وكما يجب ألا تزيد عن حد معين، وإلا لن يمكن التعرف على بعض التراكيب التى قد تكون مقاومة بدرجة جيدة فى الظروف الطبيعية. كما يجب أن يبقى مستوى كثافة الحشرة ثابتًا من اختبار لآخر.

2 - تزداد فى اختبارات التقييم الأولية فرصة العثور على مصدر للمقاومة كلما ازداد عدد السلالات والأصناف المختبرة. ولذا .. يجب فى تلك المرحلة زيادة أعداد الأصناف المختبرة حتى لو كان ذلك على حساب التضحية بجزء من دقة الاختبار. أما فى الاختبارات التالية، وأثناء برنامج التربية فلابد من مراعاة الدقة التامة فى اختبارات التقييم للمقاومة، ليمكن التعرف على التراكيب الوراثية المقاومة فى الأجيال الانعزالية.

3 - يفضل إجراء اختبار المقاومة فى عدة مناطق متباينة، لأن ذلك يحقق ثلاث مزايا؛ هى:

أ - إجراء الاختبارات تحت ظروف بيئية مختلفة.

ب - احتمال تعرض النباتات لسلالات مختلفة من الآفة.

جـ - قيام أفراد مختلفين بتسجيل نتائج التقييم، فيقل بذلك أثر العامل الشخصى (عن Painter 1951).

وتجرى اختبارات التقييم - عادة - إما فى الحقل وإما فى الزراعات المحمية، وقد يكون معمليًا؛ كما تختلف الأسس التى تبنى عليها اختبارات التقييم فى كل حالة منها.

الأسس التى تبنى عليها وتجرى على أساسها اختبارات التقييم

يمكن تقييم النباتات لمقاومة الحشرات على الأسس وبالطرق التالية:

أولاً: التقييم على أساس مدى الضرر الذى تحدثه الحشرة بالنباتات

يجب أن تؤخذ فى الحسبان - عند إجراء التقييم - كافة العوامل النباتية والحشرية والبيئية التى يمكن أن تؤثر فى نتيجة التقييم، وإلاّ فإن بعض الجيرمبلازم المقاوم أو المتوسط المقاومة قد يبدو وكأنه قابل للإصابة، أو العكس، ويجب أن يتم التحكم فى جميع العوامل بحيث يمكن التمييز بين الدرجات المختلفة من المقاومة أو القابلية للإصابة.

وعلى الرغم من اختلاف طريقة التقييم باختلاف الحشرة والنبات، فإنه توجد قواعد عامة، وهى التى تتناولها بالشرح.

1 - التقييم الحقلى:

يجرى التقييم الحقلى فى المواسم والمواقع التى يتوقع أن تكون الإصابة فيها عالية ومتجانسة؛ فكل نبات يجب أن تكون فرصته فى التعرض للإصابة مثل أى نبات آخر فى الحقل، علمًا بأن مستوى الإصابة المناسب يتحقق بتوفير الحد الأدنى لعدد الحشرات التى تلزم لجعل الصنف القابل للإصابة - بانتظام - فى فئة القابل للإصابة.

أ - استعمال العشائر الحشرية الحقلية:

تستخدم العشائر الحشرية الحقلية فى التقييم للمقاومة - عادة - فى المراحل الأولى من برنامج التربية، إلا أن الاعتماد عليها لا يخلو من مخاطر، مثل:

(1) قد تكون الكثافة الحشرية أقل أو أكثر مما ينبغى، وقد تكون غير متجانسة فى المكان أو فى الزمان.

(2) قد يتباين مستوى الكثافة الحشرية من سنة لأخرى؛ الأمر الذى يجعل من الصعب تفسير وربط نتائج التقييم فى الأجيال المتعاقبة فى برنامج التربية.

(3) قد تتواجد فى الحقل حشرات أخرى غير تلك المعنية بالتقييم؛ مما قد يؤثر فى نتيجة التقييم، وخاصة إذا ما كانت تُحدث بالنباتات أعراضًا شبيهة بالأعراض التى تُحدثها الحشرة المستهدفة.

ومن بين الوسائل التى يمكن اتباعها لزيادة كثافة وتجانس التواجد الحشرى فى مرحلة النمو المناسبة للتقييم، ما يلى:

(1) زراعة خطوط من نباتات جاذبة للحشرة المعنية حول الحقل.

(2) إذا لم يكف ذلك الإجراء لجذب الحشرات إلى داخل حقل التقييم فإنه يمكن قطع تلك النباتات - بعد إصابتها - لإجبار الحشرة المستهدفة إلى الانتقال منها إلى النباتات الأخرى بالحقل.

(3) استعمال مبيدات اختيارية؛ بهدف قتل الأعداء الطبيعية للحشرة مع الإبقاء على الحشرة ذاتها.

(4) زيادة معدل التسميد الآزوتى؛ بهدف زيادة نشاط الحشرة وتغذيتها وتكاثرها.

(5) استخدام المصائد لجذب الحشرة إلى الحقل، مثل المصائد الضوئية light traps، والمصائد الفيرمونية phermone traps، والمصائد الكيرومونية kairomone traps.

(6) جمع أعداد كبيرة من العشيرة المتوطنة للحشرة وإطلاقها فى حقل التقييم (عن Smith وآخرين 1994).

ويتم - عادة - تأمين الإصابة الحشرية تحت ظروف الحقل بواحدة أو أكثر من الوسائل التالية:

(1) زراعة خطوط الأصناف أو السلالات أو العشائر التى يُراد اختبار مقاومتها بين خطوط من النباتات التى تعرف بقابليتها للإصابة؛ لتكون مصدرًا متجددًا للآفة الحشرية التى تتكاثر عليها بحرية.

(2) إجراء الاختبار فى المناطق التى تشتد فيها الإصابة عادة.

(3) إجراء الاختبار فى المواسم التى تشتد فيها الإصابة عادة.

(4) إجراء اختبارات التقييم للآفات الحشرية التى تعيش فى التربة فى الحقول التى تُعرف بشدة إصابتها بتلك الآفات، مع تكرار زراعتها بنباتات قابلة للإصابة لإدامة إكثار تلك الحشرات.

(5) نقل أعداد متساوية من بيض الآفة الحشرية أو يرقاتها إلى كل نبات من تلك التى يرغب فى تقييمها.

ويمكن تحفيز الإصابة تحت ظروف الحقل بإحداث عدوى صناعية محدودة يمكن أن تنتشر منها الإصابة فى باقى الحقل. ويمكن تحقيق ذلك بإحدى الطرق التالية:

(1) نثر أجزاء من أوراق مصابة على النباتات فى الحقل، حيث تنتقل الآفة منها - بمجرد ذبولها - إلى النباتات التى يُراد اختبارها، وتفيد هذه الطريقة - خاصة - فى اختبارات المقاومة للمن.

(2) وضع نباتات كاملة مصابة بشدة بالآفة المعنية فى أماكن متفرقة من الحقل، حيث تنتقل الآفة منها - بمجرد ذبولها - إلى النباتات التى يُراد اختبارها بطريقة أقرب ما تكون إلى العدوى الطبيعية.

(3) زراعة خطوط من صنف قابل للإصابة بين خطوط النباتات التى يراد اختبارها، مع عدوى نباتات هذا الصنف صناعيا.

(4) زراعة خطوط من أحد الأنواع الشديدة القابلية للإصابة بالآفة المعنية - مبكرًا - بين خطوط النباتات التى يراد اختبارها، لكى تتوفر أعداد كبيرة من الآفة فى وقت مبكر من موسم النمو.

(5) يتم فى حالة ثاقبات الذرة تربية الحشرة فى المعمل ودفعها لوضع البيض، ثم تنقل كتل البيض إلى النباتات النامية فى الحقل، وبذا .. تكون العدوى متجانسة وتجرى فى الوقت المرغوب، ولكن يجب عند اتباع هذه الطريقة استخدام أعداد كبيرة من الآفة تمثل العشائر الطبيعية منها، على ألا تتسبب تربيتها المعملية فى أى تغيير فى سلوكياتها المتعلقة بالتغذية.

(6) يمكن بالنسبة لآفات التربة تخصيص أحد الحقول لإجراء اختبارات التقييم بعدواه صناعيا فى البداية، ثم المحافظة على استمرار تواجد الآفة فيه بزراعته من موسم لآخر بأحد الأصناف الشديدة القابلية للإصابة بتلك الآفة (عن Painter 1951، Russell 1978).

ومن الأمثلة الناجحة على اختبارات التقييم الحقلية أنه أمكن تقييم 2000 صنف من التفاح فى المملكة المتحدة (شكَّلَت الـ UK National Fruit Trials) لمقاومة الحشرات خلال موسم واحد تم خلاله إيقاف برنامج المكافحة العادى بالمبيدات. وبرغم أن الغرض من إيقاف برنامج المكافحة كان تقدير مدى الضرر الذى يحدث لكل صنف من جراء الإصابات الحشرية، إلا أن هذه التجربة أدت إلى اكتشاف حالات المقاومة التالية:

- أربعة عشر صنفا ذات مقاومة عالية جدًّا لمن التفاح الوردى **Sappaphis mali**.

- ثلاثة أصناف منيعة لمن التفاح الأخضر **Aphis pomi**.

- عديد من الأصناف المقاومة لحشرة **Psylla mali** (الـ **Apple sucker**).

- عديد من الأصناف المقاومة لحشرة **Hoplocampa testudinea** (الـ **Apple sawfly**).

ب - استعمال العدوى الصناعية:

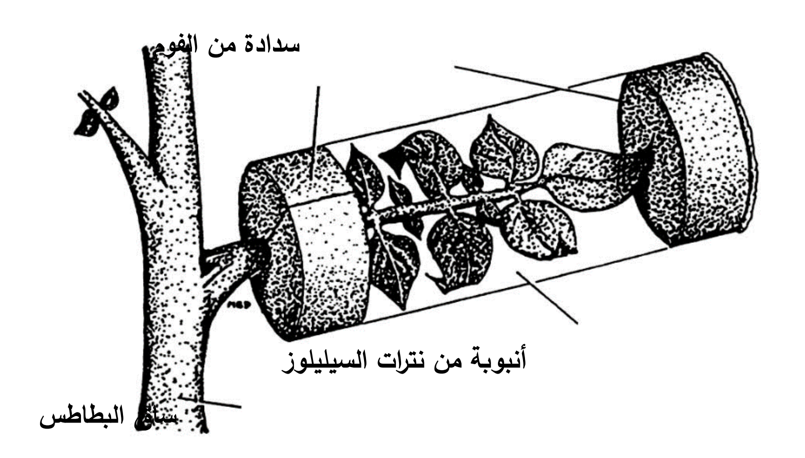
يمكن عن طريق إكثار الحشرة - على نطاق واسع - على عوائلها الطبيعية أو على البيئات الصناعية توفير أعداد كبيرة منها لاستخدامها فى التقييم فى الوقت المناسب، علما بأن كلا من الحشرات نصفية الأجنحة hemipterans، والمتشابهة الأجنحة homopterans، وذات الجناحين dipterans يمكن إكثارها بنجاح على عوائلها، بينما تتوفر البيئات الصناعية لتربية وإكثار حشرات حرشفية الأجنحة lepidopterans، هذا إلاّ أن الإكثار الحشرى المستمر على البيئات الصناعية غالبا ما يقلل من تنوعها الوراثى، ويغير من سلوكها وطبيعة الأيض فيها؛ الأمر الذى يتطلب مراقبة ذلك على الدوام لتجنب حدوث أى انحراف وراثى فى العشيرة المرباة. ومن بين الوسائل الفعالة لتحقيق ذلك إضافة أفراد برية من الحشرة إلى العشيرة المرباة على فترات، والتأكد من أن بيئة التغذية الصناعية المستخدمة لا تختلف فى تركيبها الكيميائى عن النبات العائل.

2 - التقييم فى الأقفاص الحقلية field cage screening:

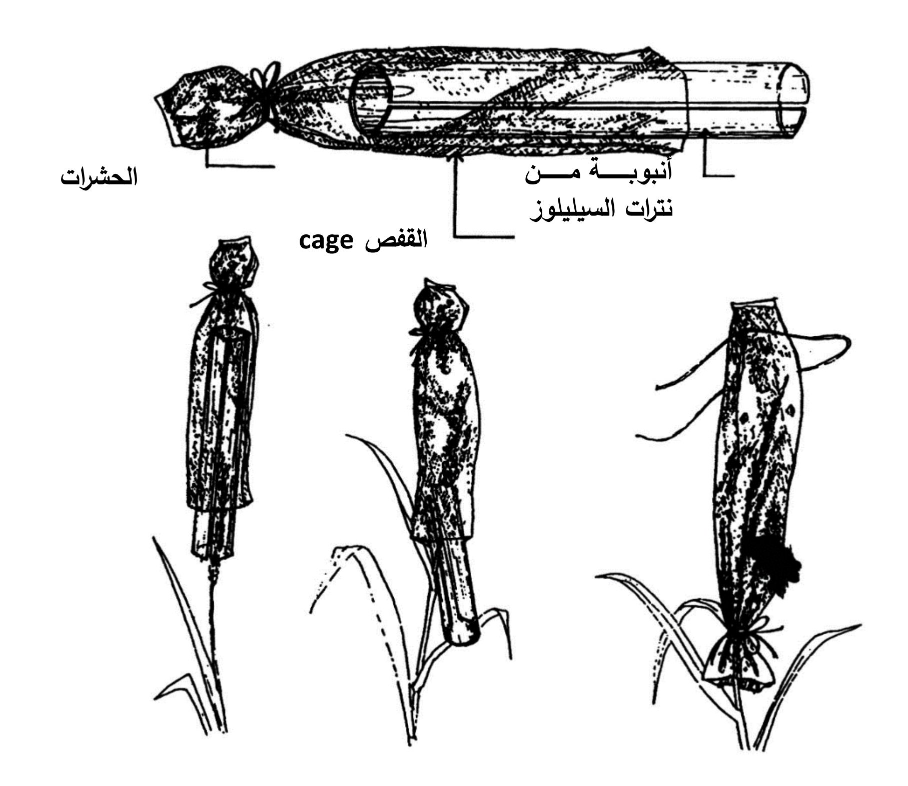
قد يكون التقييم فى الأقفاص cages الحقلية ضروريًّا لمنع هجرة الحشرة من النباتات التى يجرى تقييمها، وكذلك لحمايتها من الأعداء الطبيعية. قد يكون القفص كبيراً ويتسع لعديد من النباتات وقد يكون صغيرا ويتسع لنبات واحد أو حتى لجزء من النبات (شكلا 12-1، و 12-2). وقد يتكون هيكل القفص من الخشب أو الألومنيوم أو الحديد،

وقد يغطى بالشباك السلكية أو بالساران saran، كما قد تصنع الأقفاص الصغيرة من البوليستر أو أقمشة النيلون أو البولى بروبلين، وقد تكون على صورة أنابيب تتسع للورقة النباتية (شكل 12-1) أو أكمام sleevs تتسع لفرع من النبات أو لقمته النامية (شكل 12-2).

هذا .. وربما تؤثر بعض الأقفاص على الظروف البيئية داخل القفص بما يغير من النمو النباتى أو من سلوك الحشرة، وقد يتسبب فى حدوث إصابات مرضية شديدة (عن Smith وآخرين 1994).



شكل (12-1): قفص cage حقلى يستعمل لأجل إبقاء يرقات حشرة Leptinotarsa decemlineata على أوراق جنس البطاطس .Solanum spp (عن Smith وآخرين 1994).



شكل (2-12): أقفاص cages حقلية خاصة تستعمل لأجل إبقاء حشرة Oebalus pugnax البالغة على نباتات الأرز.

3 - التقييم فى البيوت المحمية

على الرغم من محدودية أعداد السلالات والنباتات التى يمكن تقييمها للمقاومة فى البيوت المحمية، فإن نتائج التقييم تكون - عادة - أقل تباينًا من تلك التى تجرى تحت ظروف الحقل؛ بسبب إمكان التحكم فى الظروف البيئية وفى كثافة التواجد الحشرى (عن Singh 1993).

تسمح اختبارات البيوت المحمية بإجراء التقييم فى أى وقت، وعلى أى مستوى من الإصابة يكون مرغوبا فيه. وإذا أجرى الاختبار فى طور البادرة فإنه يكون فى الإمكان تقييم أعداد كبيرة من النباتات.

ويتم فى اختبارات البيوت المحمية نقل الآفة إلى الصوبة لكى تتكاثر بداخلها، أو قد يعدى كل نبات فيها بعدد معين من الحشرات.

وبينما يسمح التقييم فى البيوت المحمية بالتحكم بقدر أكبر فى انتخاب النباتات المقاومة، فإنه يحد من مقدار الجيرمبلازم الذى يمكن تقييمه فى فترة زمنية معينة.

وفى جميع الأحوال فإن اختبارات الصوبة والحقل تعد مكملة لبعضها؛ حيث يلزم غالبا تكرار اختبارات الصوبة فى الحقل؛ للتأكد من المقاومة تحت الظروف الطبيعية (عن Painter 1951، و Russell 1978).

وتُجرى اختبارات التقييم إما على أساس الاختيار الحر للحشرة أو عدم الاختيار، كما يلى:

قد يجرى الاختبار بطريقة لا تدع للحشرة مجالاً للاختيار بين الأصناف المقّيمة؛ بحيث يصل إلى نباتات كل صنف أعدادًا متساوية من الحشرة، مع فصل نباتات كل صنف - فيزيائيًّا - عن الأصناف الأخرى، وهو ما يعرف باختبار عدم الاختيار (أو عدم التفضيل) non-choice (no-preference) test، وذلك مقارنة باختبار الاختيار (أو التفضيل) choice (preference) test، وهو الذى تُتاح للحشرة فيه التنقل بين النباتات المقيمة من مختلف التراكيب الوراثية. وجدير بالذكر أن النبات الذى قد يوصف بأنه مقاوم فى choice test، قد يكون قابلاً للإصابة فى no-choice test.

إن اختبار عدم الاختيار يؤمن توزيعًا متجانسًا للحشرات المستخدمة فى الاختبار على جميع الأصناف المقيمة - دونما اعتبار لِما إذا كانت مقاومـة أو قابلة للإصابة - وذلك من بداية اختبار التقييم إلى نهايته، مع تجنب أى احتمال للإفلات من الإصابة الحشرية.

وكمثال على أهمية التمييز بين نتائج اختبارات الاختيار وعدم الاختيار .. تبين لدى تقييم 10 أصناف من الأرز لمقاومة نطاط النباتات Sogatella furcifera أن الصنف Podini A8 كان متوسط المقاومة والصنف N22 كان مقاومًا فى اختبار الاختيار choice test، بينما تأكد من اختبار عدم الاختيار no-choice test أن الصنف الأول كان قابلاً للإصابة وأن الصنف الثانى كان متوسط المقاومة.

4 - التقييم المعملى

قد يحتاج الأمر أحيانًا إلى إجراء تقييم معملى لزيادة التحكم فى كافة العوامل التى يمكن أن تؤثر فى عملية التقييم. ولا يُلجأ إلى التقييم المعملى - عادة - إلاّ كوسيلة مؤكدة وسريعة لتأكيد نتائج تقييم سابق أُجرى تحت ظروف الحقل أو البيوت المحمية.

لا يكون من العملىّ استعمال نباتات كاملة فى عمليات التقييم المعملى، وإنما تُستخدم - غالبًا - أوراق مفصولة أو أقراص ورقية تؤخذ من الأوراق باستخدام ثاقبات فلين. وعلى الرغم من أن أبحاثا عديدة أكدت على عدم وجود فروق بين نتائج التقييمين الحقلى والمعملى، إلا أنه أصبح معلومًا بصورة جلية أن الأضرار الفيزيائية التى تحدث بالنبات (مثل فصل الورقة أو قطع قرص منها باستعمال ثاقبة فلين ... إلخ) يترتب عليها سلسلة من التغيرات الجوهرية بالنبات، يمكن أن تقلل أو تزيد من صلاحية النبات كغذاء للحشرة، ويمكن أن تؤثر فى قدرة الحشرة على التكاثر والبقاء.

كما يفيد استخدام مزارع الأنسجة فى التقييم لمقاومة الحشرات فى الحالات التى تحدث فيها المقاومة بسبب احتواء النباتات على مركبات كيميائية معينة تؤثر فى نمو وتطور الحشرة (أى فى حالات الـ antibiosis). ويوفر اختبار مزارع الأنسجة فرصة جيدة للتحكم فى كافة العوامل البيئية التى يمكن أن تؤثر فى نتائج الاختبارات الأخرى.

وتستخدم - عادة - أنسجة الكالس الخاصة بالتراكيب الوراثية التى يُراد تقييمها فى تغذية الحشرات المعنية، ولقد اتبعت - بالفعل - تلك الطريقة فى اختبار جيرمبلازم الذرة وحشيشة برمودا والأرز لعديد من الأنواع الحشرية والتى ثبت فيها توافق نتائج اختبارات مزارع الأنسجة مع نتائج الاختبارات الحقلية.

ثانيًا: التقييم على أساس الاستجابات الحشرية للنباتات

يؤخذ فى الحسبان عدد من الاستجابات الحشرية السلوكية والفسيولوجية عند تطوير اختبار للمقاومة يبنى على أساس الاستجابات الحشرية. وعلى الرغم من أهمية كل نوع من الاستجابات الحشرية - على حدة - فى الإسهام فى صفة المقاومة، فإن محصلة كل الاستجابات - مجتمعة - هى التى تحدد مستوى المقاومة. ونتناول بالشرح - فيما يلى - نوعيات تلك الاستجابات.

1 - التوجه نحو العائل والاستقرار عليه:

على الحشرة أن تجد النبات أولا وتبقى عليه قبل أن تتمكن من التغذية، ووضع البيض، والتمكن من المعيشة عليه. ويتضمن توجه الحشرة نحو النبات عدة محفزات منظورة أو كيميائية تنبعث من النبات، ويمكن أن تدركها الحشرة من على مسافة قبل ملامستها للنبات. ويؤدى التوجه الحشرى الإيجابى نحو النبات إلى وصول الحشرة إليه واحتمال استقرارها عليه، بينما يؤدى التوجه الحشرى السلبى نحو النبات إلى نفورها منه.

ويتم قياس التوجه الحشرى وعملية الاستقرار على النبات - عادة - عن طريق اختبارات الاختيار choice tests بملاحظة أعداد الأفراد الحشرية التى تتوجه - ابتداء - نحو النبات، ثم تبقى عليه لبعض الوقت للتغذية ووضع البيض. وبينما تستغرق عملية التوجه دقائق معدودة إلى حوالى الساعة من وقت إطلاق الحشرة، فإن استقرارها يستغرق - عادة - وقتًا أطول.

2 - التغذية:

يفيد قياس التغيرات فى سلوك تغذية الحشرة على كل من النباتات المقاومة والقابلة للإصابة فى التعرف على مصادر المقاومة فى برامج التربية. ويختلف نوع الضرر الذى تحدثه الحشرة حسبما إذا كانت من الحشرات الثاقبة الماصة، أم من الحشرات القارضة.

تُحدث الحشرات الثاقبة الماصة (مثل المن ونطاطات الأوراق ونطاطات النباتات والذباب الأبيض) أضرارها بامتصاصها لكميات كبيرة من العصير النباتى من النسيج الوعائى - وخاصة اللحاء - وكذلك من جراء نقلها لبعض الفيروسات أثناء تغذيتها.

أما الحشرات القارضة فإنها تستهلك عائلها بالقرض المباشر.

3 - النمو الحشرى:

تُعد تغذية الحشرة وأيض الغذاء الذى تستهلكه من أهم دلائل المقاومة والقابلية للإصابة.

4 - فترة حياة الطور البالغ ومدى خصوبته وعدد البيض الذى تضعه كل أنثى.

5 - اختيار الحشرة للموقع المناسب لها لوضع البيض **oviposition**.

6 - قدرة البيض على الفقس **egg hatchability**.

7 - الزيادة فى حجم عشيرة الحشرة (عن **Smith** وآخرين **1994**).

وراثة المقاومة

يمكن أن تكون وراثة المقاومة للحشرات والأكاروسات على أية صورة من الصور التى سبقت دراستها بالنسبة لمقاومة الأمراض، فهى قد تكون بسيطة، أو كمية، أو **oligogenic** (أى يتحكم فيها عدد قليل من الجينات الرئيسية)، وقد تكون جينات المقاومة سائدة، أو متنحية، أو ذات تأثير إضافى (جدولا 12-2، و 12-3).

ويتحكم - أحيانا - جين واحد فى مركب ما - يعد مادة أولية Precourser - لتمثيل سلسلة من المركبات الأخرى التى قد يكون بعضها مسئولا عن مقاومة الآفة. وفى حالات كهذه .. قد تكون المقاومة بسيطة (إذا تحكم جين واحد فى تمثيل المادة الأولية)، ولكنها تظهر فى عدة صور. كذلك قد يتحكم جين آخر فى تمثيل مركب ثان يعمل بدورة كمادة أولية لتمثيل سلسلة المركبات التى قد تتشابه أو تختلف مع مركبات السلسلة الأولى؛ وبذا .. يمكن أن يتحكم فى المقاومة زوجان من الجينات غير الآليلية اللذان قد يكونان مسئولين عن نظامين مختلفين أو نظام واحد للمقاومة.

وجدير بالذكر أن المقاومة للحشرات أو الأكاروسات قد تكون تامة أو جزئية، ولا يجب إهمال النوع الثانى فى غياب المقاومة التامة للحشرة، لأن المقاومة الجزئية قد تغنى عن الرش بالمبيدات، وتفيد فى مكافحة الآفة إذا وجدت بأعداد قليلة. إلا أن المقاومة الجزئية لا تفيد إذا وجدت الآفة بأعداد كبيرة، أو إذا أصابت الجزء المستعمل فى الغذاء.

جدول (2-12): وراثة المقاومة لعدد من الآفات الحشرية الرئيسية للمحاصيل الزراعية (عن Panda & Khush 1995).

المحصول	الآفة الحشرية	وراثة المقاومة والجين أو الجينات التى يتحكم فيها(أ)
الأرز	Brown planthopper	Bph-1, bph-2, Bph-3, bph-4, pbh-5, Bph-6, bph-7, bph-8, Bph-9
	Whitebacked planthopper	Wbph-1, Wbph-2, Wbph-3, wbph-4, Wbph-5
	Green leafhopper	Glh-1, Glh-2, Glh-3, glh-4, Glh-5, Glh-6, Glh-7, glh-8
	Zigzag leafhopper	Zlh-1, Zlh-2, Zlh-3
	Gall midge	Gm-1, Gm-2
	Striped stem borer	Monogenic (antibiosis), Polygenic (tolerance)
القمح	Hessian fly	H-1, H-2, H-3, h-4, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25, H-26
	Greenbug	gb (Gb-1), Gb-2, Gb-3, Gb-4, Gb-5
	Cereal leaf beetle	2-3 genes, polygenic
	Wheat stem sawfly	1-4 genes (stem solidness)

الذرة	European corn borer	Polygenic
	Corn earworm	Polygenic
	Western corn rootworm	Monogenic, polygenic
	Corn leaf aphid	Monogenic, polygenic
	Fall armyworm	Polygenic
	Spotted stem borer	Polygenic
السورجم	Corn leaf aphid	
	Greenbug	Monogenic, 2-3 genes
	Shootfly	Polygenic, tr (trichome on leaf surface)
	Sorghum midge	2-3 genes, polygenic
	Chinch bug	Monogenic, 1-2 dominant genes
	Stem borer	Polygenic
الشعير	Hessian fly	H-f, Hf-1, Hf-2
	Cereal leaf beetle	Monogenic
	Greenbug	Grb (Rsg-1a), Rsg-2b
	Corn leaf aphid	s-1, s-2(complementary)
القطن	Boll weevil	A few genes (pubescence, frego bract, okra leaf)

H-1, H-2, Sm (hairiness, smooth leaf) nonpreference	Thrips (Thrips spp.)	
Gl-2, Gl-3 (nonpreference/antibiosis)	Tobacco budworm	
H, H-1, H-2, a few modifiers (hairiness)	Jassids (Empoasca spp.)	
	Tarnished plant bug	

تابع جدول (2-12):

المحصول	الآفة الحشرية	وراثة المقاومة والجين أو الجينات التى يتحكم فيها(أ)
	Pink bollworm	A few genes, polygenic
التفاح	Rosy leaf curling aphid	Sd-1, Sd-2, Sd-3, Sd-pr
	Rosy apple aphid	Smh
	Wooly apple aphid	Er
الراسبرى	Rubus aphid Amphorophora rubi	A-1, A-2, A-3, A-4, A-5, A-6, A-7, A-8, A-9, A-10, A-10, A-k4a
	Amphorophora agathonica	A-cor 1, A-cor 2, Ag-1, Ag-2, Ag-3 (complementary)
الكشمش	Leafcurling midge	Dt
الأســـود		
	Gall mite	Ce
الموالح	Red scale	Polygenic
الكنتالوب	Melon aphid	Monogenic
	Red pumpkin beetle	Monogenic, polygenic

الخيار	Striped cucumber beetle	cu, polygenic
	Two-spotted spider mite	Bi, polygenic
الكوسة	Squash bug	Polygenic
القرع العسلى	Fruit fly	Fr (two complementary dominant genes)
الخس	Leaf aphid	Nr
	Root aphid	Cytoplasmic and nuclear genes (modifiers)
البامية	Cotton jassid	Polygenic, monogenic (cotyledonary stage)
الطماطم	Fruit borer	Polygenic
البطاطس	Potato tuber moth	A few genes, polygenic
فول الصويا	Mexican bean beetle	2-3 genes, polygenic
فاصوليا المنَج	Azuki bean weevil	Monogenic
الفاصوليا	Leafhopper	Polygenic
اللوبيا	Cowpea aphid	Rac, Rac-1, Rac-2
	Cowpea seed beetle	rcm-1, rcm-2

A few major genes	Spotted alfalfa aphid	البرسـيم
Monogenic	Pea aphid of alfalfa	الحجازى
Monogenic	Sweet clover aphid	
Polygenic	Potato leafhopper	

جدول (12-3): وراثة المقاومة للحشرات فى بعض المحاصيل الزراعية (عن Singh 1993).

نوع المقاومة	النوع المحصولى	الآفة	وراثة المقاومة(أ)	تواجد السلالات البيولوجية
المقاومة بسيطة أو	القمح	البقة الخضراء	1d + m	+
oligogenie	الأرز	نطاطات النباتات البنية	2D = 2d	+
		ذبابة التثألل	2D + 1d	+
		نطاطات النباتات ذات الظهر الأبيض	3D + 1d	+
		نطاطات الأوراق الخضراء	6D + 1d	+
	القطن	الجاسيد	1D + m	-
	الراسبرى	المن	1D	+
	التفاح	المن الصوفى	1D	+
	القمح	ذبابة هسيان	5D + 5d	+
		ذبابة الساق المنشارية	1D + 1d	-
	الشعير	البقة الخضراء	2D	+
	الذرة	حفار الساق	NK	-

	البرسيم الحجازى	من البسلة	1D + 1d	-
المقاومة كمية	القمح	خنفساء الأوراق	NK	-
	الأرز	حفار الساق	NK	-
	الذرة	دودوة الكوز	NK	-
		من الأوراق	NK	-
	البرسيم الحجازى	المن المبقع	NK	-
	الكرنبيات	المن	NK	+
المقاومة	الذرة	حفار ساق الذرة الأوروبى	سيتوبلازمية	-
سيتوبلازمية	الخس	من الجذور	سيتوبلازمية	-

أ: D = سائد، و d = متنحى، و m = جينات محورة، و NK = غير معروف، و + تعنى تواجد طرز بيولوجية قادرة على كسر المقاومة، و - تعنى عدم العثور على طرز بيولوجية قادرة على كسر المقاومة.

ومن الأمثلة على الحالات المختلفة لوراثة المقاومة، ما يلى:

1 - المقاومة التى يتحكم فيها جين واحد:

من أمثلة المقاومة التى يتحكم فيها جين واحد مقاومة القمح للبقة الخضراء، والراسبرى للمن، والأرز لنطاطات الأوراق ونطاطات النباتات، والقطن للجاسيد، والتفاح للمن الصوفى.

وتتميز المقاومة البسيطة - عادة - بصفة معينة واحدة تكون هى المسئولة عن المقاومة، وبأنها يمكن أن تكسر بسهولة الطرز الحيوية الحشرية القادرة على إصابة النباتات الحاملة لها، ولكن غالبية حالات المقاومة البسيطة للحشرات تحتفظ بفاعليتها لفترات طويلة جدًّا لأسباب أسلفنا بيانها فى موضع آخر (عن Singh 1993).

ومن الأمثلة على حالات المقاومة البسيطة للحشرات ما يلى (عن Gallun & Kush 1980):

المحصول	الحشرة	وراثة المقاومة
القاوون	**من القاوون Aphis gosypii**	**بسيطة وسائدة (الجين Ag)**
الكوسة	**خنفساء القرع العسلى الحمراء Aulacophora foveicollis**	**بسيطة وسائدة (الجين Af)**
	خنفساء الخيار Acalymma vittatum	**كمية والجينات ذات تأثير إضافى**
	خنفساء الكوسة Anasa tristis	**كمية وسائدة جزئيًّا**

وتتوفر المقاومة البسيطة فى الأرز ضد نطاط الأوراق الأخضر green leafhopper الذى ينتشر تواجده فى كل آسيا، وخاصة فى المناطق الاستوائية وشبه الاستوائية. تصيب الحشرة الأرز مسببة له أضرارًا كثيرة مباشرة، فضلاً عن نقلها له لفيرس تنجرو tungro virus.

وتعرف عدة جينات لمقاومة تلك الحشرة، وهى تتوزع فى عدة أصناف من الأرز، كما يلى (عن Kush 1992):

الجين	الصنف
Glh-1	Pankhari 203
Glh-2	ASD 7
Glh-3	IR 8
glh-4	Ptb 8
Glh-5	ASD 8
Glh-6	IR 36
Glh-7	Modai Karuppan
glh-8	DV 85

2 - المقاومة التى يتحكم فيها عدد محدود من الجينات:

تعرف المقاومة التى يتحكم فيها عدد محدود من الجينات (من 2-4 جينات) باسم oligogenic resistance، وفيها قد يتحكم كل جين فى صفة بسيطة للمقاومة، أو تتحكم جميع الجينات - معًا - فى صفة واحدة تكون هى المسئولة عن المقاومة للحشرة. ومن الأمثلة على حالة المقاومة تلك مقاومة القمح لكل من ذبابة هسيان وذبابة الساق المنشارية، والشعير للبقة الخضراء، والبرسيم الحجازى للمن.

3 - المقاومة التى يتحكم فيها عديد من الجينات:

تتميز المقاومة التى يتحكم فيها عدة جينات بأنها تشتمل على أكثر من خاصية نباتية تؤثر فى صفة المقاومة، وبأنها أكثر ثباتًا، وبأن الاختلافات بين النباتات المقاومة والقابلة للإصابة ليست فاصلة كما فى حالة المقاومة البسيطة، وإنما يوجد فيها استمرارية، كما أن نقل تلك المقاومة إلى الأصناف التجارية يعد أكثر صعوبة من نقل المقاومة البسيطة، ومن أمثلتها مقاومة القمح لخنفساء أوراق الحبوب، والبرسيم الحجازى للمن المبقع، والأرز لثاقبات الساق، والذرة لدودة الكوز ومن الأوراق (عن Singh 1993).

الطرز البيولوجية، وعلاقتها بالمقاومة، ونظرية الجين للجين

الطرز البيولوجية (السلالات الفسيولوجية)

تعرف السلالات الحشرية التى تتباين فى قدرتها على إصابة أصناف العائل التى تختلف - بدورها - فى جينات المقاومة التى تحملها باسم طرز بيولوجية biotypes، وهى تتشابه فى طبيعتها مع السلالات الفسيولوجية physiological races والطرز الباثولوجية pathotypes فى مسببات الأمراض، إلاّ أن معدل ظهور الطرز البيولوجية الجديدة فى الحشرات يقل كثيراً عن معدل ظهور الطرز الباثولوجية فى مسببات الأمراض بمختلف أنواعها، كما أن ظهورها لا يكون لافتًا للنظر مثلما يكون عليه الحال بالنسبة للطرز الباثولوجية.

ويرجع ذلك الاختلاف فى معدل ظهور الطرز البيولوجية للحشرات والأضرار التى تحدثها عما يكون عليه الحال بالنسبة للطرز الباثولوجية لمسببات الأمراض إلى الأسباب التالية:

1 - يقل نسل أى حشرة كثيراً جدًّا عن الأعداد الفلكية للأفراد الجديدة التى تنتجها مسببات الأمراض النباتية، وخاصة الفطرية منها، كما أن المسببات المرضية (البكتيريا والفيروسات خاصة) تنتج عدة مئات من الأجيال فى الموسم المحصولى الواحد، مقارنة بجيل واحد أو عدد قليل من الأجيال فى الآفات الحشرية. ويترتب على ذلك أن فرصة ظهور التباينات الوراثية الجديدة - سواء أكانت عن طريق الطفرات، أم عن طريق الانعزالات أو غيرها - تكون أقل كثيراً فى الحشرات عما فى المسببات المرضية.

2 - تتضمن المقاومة للحشرات - عادة - بعض العوامل المورفولوجيةأو البيوكيميائية الفسيولوجية غير المتخصصة، ويتطلب تغلب الحشرة على تلك المقاومات حدوث تغيرات فى فسيولوجى الحشرة أو سلوكها، وهى صفات قد يتحكم فيها عدة جينات؛ الأمر الذى يجعل ظهور تلك التغيرات أمرًا ضعيف الاحتمال مقارنة بالتميز الفسيولوجى الذى يحدث فى مسببات الأمراض، والذى يتضمن - عادة - جينًا واحدًا.

3 - بينما لا يمكن اكتشاف ظهور طرز بيولوجية حشرية جديدة إلاّ عند توفر أصناف من العائل تتباين فيما تحمله من جينات المقاومة، فإن حالات المقاومة النباتية للحشرات المعروفة تقل كثيراً عن الحالات المعروفة لمقاومة مسببات الأمراض؛ مما يجعل اكتشاف الطرز البيولوجية الحشرية الجديدة أمرًا قليل الاحتمال، مقارنة بإمكان اكتشاف الطرز الباثولوجية الجديدة لمسببات الأمراض.

4 - لم تنتشر زراعة الأصناف المقاومة للحشرات على نطاق واسع مثلما حدث بالنسبة لزراعة الأصناف المقاومة لمسببات الأمراض؛ وبذا .. لم يكن الضغط الانتخابى على الحشرة لظهور وتكاثر السلالات البيولوجية الجديدة كبيراً كما هو الحال بالنسبة للطرز الباثولوجية للمسببات المرضية. ولكن تجدر الإشارة إلى أن هناك حالات محددة زرعت فيها الأصناف المقاومة للحشرات لسنوات عديدة على نطاق واسع دون أن تظهر أى طرز بيولوجية جديدة قادرة على كسر مقاومتها.

5 - لم تحظ دراسات المقاومة للحشرات بذات القدر من الاهتمام الذى نالته دراسات المقاومة لمسببات الأمراض؛ الأمر الذى ضعفت معه فرصة اكتشاف أى طرز بيولوجية جديدة منها.

هذا .. وقد يصبح الصنف المقاوم لحشرة معينة قابلاً للإصابة لأى من الأسباب التالية:

1 - ظهور طراز بيولوجى حقيقى جديد قادر على كسر المقاومة **true resistance-breaking biotype**، يكون متأقلمًا أو متخصصًا على كسر المقاومة التى يوفرها جين المقاومة فى الصنف المقاوم. وبذا .. يكون هذا الطراز أكثر نجاحًا فى إصابة الأصناف التى تحمل هذا الجين عن غيرها. ويتشابه هذا الوضع مع حالة التفاعل بين العائل والمسبب المرضى (نظرية الجين للجين)، ومن أمثلتها الطرز البيولوجية للمن وأصناف الراسبرى، والطرز البيولوجية لنطاطات الأوراق ونطاطات النباتات وأصناف الأرز.

2 - ظهور طراز بيولوجى فائق النشاط highly vigrous biotype يكون قادرًا على إصابة كلا من الأصناف المقاومة والقابلة للإصابة على حد سواء، ولا يكون هذا الطراز متأقلما أو متخصصًا على كسر المقاومة التى يوفرها جين المقاومة؛ وبذا .. فإن تلك الحالة لا تنطبق عليها نظرية الجين للجين، ومن أمثلتها منّ الكرنب الذى يصيب أصناف لفت الزيت.

3 - قد تظهر تباينات فى عشيرة الحشرة يطلق عليها اسم سلالات races، وقد تختلف تلك السلالات مورفولوجيا أو لا تختلف، وقد ترتبط تلك التباينات أو لا ترتبط بتميز طرز بيولوجية جديدة؛ الأمر الذى يحدث فى كثير من الحشرات، مثل ذبابة هسّيان Hessian fly (عن Singh 1993).

ويبين جدولا (12-4)، و (12-5) أمثلة لتعدد السلالات الفسيولوجية (أو الطرز البيولوجية) المعروفة من عدد من الآفات الحشرية الهامة فى بعض المحاصيل الزراعية.

جدول (12-4): عدد السلالات المعروفة من عدد من الآفات الحشرية الهامة (عن Van Emden 1987).

المحصول	الحشرة	عدد السلالات المعروفة منها
البرسيم الحجازى والبسلة	Acyrthosiphon pisum (من البسلة)	7
التفاح	Dysaphis devecta (من التفاح الوردى)	3
الراسبرى	Amphorahora rubi (من الـ rubus)	4
الأرز	Nilaparvata lugens (نطاط النبات البنى)	4
العنب	Phylloxera vitifoliae (فيللوكسيرا العنب)	2

الذرة والسورجم	Phopalosiphum maidis (من أوراق الذرة)	5
القمح والسورجم	Schizaphis graminum (البقة الخضراء)	3
البرسيم الحجازى	Therioahis maculata (من البرسيم الحجازى المبقع)	9
القمح	Mayetiola destructor (ذبابة هسّيان)	9
اللوبيا	Aphis craccivora (من الفول السودانى)	2
كرنب بروكسل	Brevicoryne brassicae (من الكرنب)	7

وفى المقابل .. فإنه تعرف حالات كثيرة ظلت فيها المقاومة ثابتة لسنوات عديدة، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - مقاومة العنب لحشرة الفيللوكسيرا Phylloxera vitifoliae.

2 - مقاومة التفاح لمنّ التفاح الصوفى Eriosoma lanigerum.

3 - مقاومة القطن للجاسيد.

4 - مقاومة الأرز لنطاط الأوراق الأخضر.

وجدير بالذكر أن ظهور سلالات فسيولوجية جديدة من الحشرات القادرة على كسر المقاومة لا يجب أن يثبط من عزيمة المربى، حيث يستدل من الخبرات السابقة فى هذا المجال أن هذه السلالات لا تقلل من أهمية المقاومة قبل مرور عدة سنوات من ظهورها، كما يندر أن يحدث كسر تام للمقاومة فى مناطق شاسعة من المحصول المزروع بالصنف المقاوم.

جدول (12-5): أمثلة لحالات تعدد الطرز البيولوجية للآفات الحشرية للنباتات (عن Panda & Khush 1995).

المحصول	الحشرة	عدد الطرز البيولوجية المعروفة
القمح	Mayetiola destructor (Say) (Hessian fly)	9 (حقلية)
	Schizaphis graminum (Rondani) (greenbug)	7
الراسبرى	Amphorophora idaei (Born) (raspberry aphid)	4
البرسيم الحجازى	Acyrthosiphon pisum (Harris) (pea aphid)	4
	Therioaphis maculata (Buckton) (spotted alfalfa aphid)	6
السورجم	Schizaphis graminum (Rondani) (greenbug)	5
الذرة	Rhopalosiphum maidis (Fitch) (Corn leaf aphid)	5

الأرز	Nilaparvata lugens Stal (brown planthoppe)	4
	Nephotettix virescens (Distant) (green leafhopper)	3
	Orseolia oryzae (Wood-Mason) rice gall midge	4
التفاح	Eriosama lanigerum (Hausm) (woolly aphid)	3

علاقة وراثة المقاومة بظهور السلالات الجديدة

لقد ظهرت سلالات جديدة من الحشرات فى بعض حالات المقاومة البسيطة والمركبة على حد سواء، ولكن ظهورها كان بمعدلات أعلى فى حالات المقاومة البسيطة (جدول 12-6). ومن أمثلة المقاومة المركبة التى ظهرت فيها سلالات فسيولوجية جديدة، مقاومة نبات الـ rape (لفت الزيت) لمن الكرنب فى إنجلترا ونيوزيلندة.

جدول (12-6): العلاقة بين وراثة المقاومة للحشرات فى النباتات وظهور السلالات الجديدة القادرة على كسر المقاومة (عن Russell 1978).

المحصول	الحشرة	وراثة المقاومة	وجود السلالات
القمح	ذبابة هسّيان	كمية - خمسة جينات سائدة وخمسة متنحية	توجد*
	البقة الخضراء	بسيطة ومتنحية مع وجود جينات محورة	توجد*
	stem sawfly	كمية - جينات سائدة ومتنحية	لا توجد
	خنفساء أوراق الحبوب	كمية	لا توجد
الشعير	البقة الخضراء	زوجان من الجينات السائدة	توجد
القطن	دودة اللوز	غير معروفة	لا توجد

تابع جدول (12-6):

المحصول	الحشرة	وراثة المقاومة	وجود السلالات
	الجاسيد	بسيطة وسائدة مع وجود جينات محورة	لا توجد
البرسيم الحجازى	المن المبقع	كمية	توجد
	من البسلة	جين سائد وآخر متنح	توجد
الأرز	ثاقبات الساق	كمية	لا توجد
	نطاطات النباتات	بسيطة وسائدة مع وجود جينات محورة متنحية	توجد*
	نطاطات الأوراق	بسيطة وسائدة	توجد*
الذرة	ثاقبات الساق الأوروبية	جين واحد سائد أو أكثر، أو سيتوبلازمية(أ)	لا توجد
	دودة كيزان الذرة	كمية	لا توجد
	من الأوراق	كمية سائدة وإضافية التأثير	؟
الصليبيات	من الكرنب	كمية	توجد
الخس	من الجذور	سيتوبلازمية	لا توجد
التفاح	المن الصوفى	بسيطة وسائدة	توجد*
الراسبراى	من الـ Rubus	بسيطة وسائدة	توجد

*** تتضمن سلالات قادرة على كسر المقاومة.**

(أ) أدى الاعتماد على سيتوبلازم تكساس Texas Cytoplasm العقيم الذكر إلى زيادة الإصابة بثاقبات الذرة الأوروبية Ostrinia nubilalis.

هذا .. إلا أن كثيراً من السلالات المشار إليها فى جدول (12-6) ليست سلالات حقيقية قادرة على كسر المقاومة؛ لأنها تختلف عن بعضها البعض فى صفات مثل: الحجم، وقوة النمو، وبعض الصفات المورفولوجية، وتفضيلها الغذاء على نوع نباتى معين.

وبرغم كثرة حالات المقاومة البسيطة التى ظهرت فيها سلالات فسيولوجية جديدة، إلا أنه توجد حالات أخرى من المقاومة البسيطة التى ظلت لفترات طويلة حتى مع انتشار زراعة الأصناف المقاومة على نطاق واسع. ومن أبرز الأمثلة على ذلك أصناف القمح المقاومة للجاسيد، وأصناف الحبوب الصغيرة المقاومة لخنفساء الأوراق.

وترجع الزيادة فى معدلات ظهور السلالات فى حالات المقاومة البسيطة إلى عدم حاجة الحشرة إلى أن يحدث بها تغيرات وراثية كثيرة ليمكنها التغلب على تلك المقاومة. ومع زراعة الصنف على نطاق واسع .. تزداد الفرصة أمام السلالة الجديدة لتتكاثر وتنتشر، وقد تقضى على المقاومة فى سنوات قليلة كما حدث بالنسبة لمقاومة نطاطات الأوراق فى الأرز. وبالمقارنة .. فإن المقاومة الكمية أو الأفقية أكثر ثباتًا؛ لأنها تكون فعالة ضد جميع سلالات الحشرة - بنفس الدرجة - كما فى حالات المقاومة الأفقية للأمراض (عن Gallum & Kush 1980).

وجدير بالذكر أن السلالات الجديدة للآفة تتغلب على نظام مقاومة العائل، وليس على جينات المقاومة ذاتها. ويتأثر مدى ثبات المقاومة للحشرة بدرجة أكبر من تأثرها بعدد الجينات المسئولة عن المقاومة، وهو ما يعنى الاهتمام بإدخال عدة نظم للمقاومة فى آن واحد. ولكن .. نجد غالبا أن المقاومة الـ Oligogenic (التى يتحكم فيها عدد قليل من الجينات)، والكمية تتحكم فيها أكثر من نظام Mechanism للمقاومة؛ الأمر الذى يجعل من الصعب على الآفة أن تتغلب على عديد من طرز المقاومة فى آن واحد، فلا تظهر منها سلالات جديدة قادرة على كسر المقاومة.

وبرغم أهمية المقاومة الكمية فى ثبات المقاومة، فإن المقاومة البسيطة هى الأكثر استخدامًا فى برامج التربية. ويرجع ذلك إلى وضوح الاختلافات بين النباتات المقاومة والقابلة للإصابة فى حالات المقاومة البسيطة؛ مما يُسهِّل الانتخاب لصفة المقاومة، كما أنها تنعزل بنسب متوقعة، ويمكن إدخال الجين المسئول عن المقاومة فى أى صنف بسهولة.

علاقة طبيعة المقاومة بظهور السلالات الجديدة

كما سبق أن أوضحنا .. فإن كثيراً من حالات المقاومة التى ترجع إلى أسباب مورفولوجية تبدو ثابتة بدرجة كبيرة. فمثلا .. لم تظهر سلالات جديدة قادرة على إصابة أصناف القمح ذات السيقان المصمته المقاومة لحشرة الـ Sawfly، أو أصناف الحبوب الصغيرة ذات الشعيرات الكثيفة المقاومة لخنفساء أوراق الحبوب، أو أصناف القطن الغزيرة الشعيرات المقاومة للجاسيد.

كذلك يرتبط وجود مركبات معينة فى بعض النباتات بالمقاومة الثابتة للحشرات؛ فعلى سبيل المثال .. ترتبط المقاومة لعدة حشرات بالمحتوى المرتفع من الصبغة البولى فينولية Gossypol فى القطن، ويرتبط التركيز المرتفع لمادة 2,4-dihdroxy-7- methoxy -2H-1,4-benzoxazin-3-(4H)-one (اختصارًا: DIMBOA) فى الذرة بالمقاومة لحفار ساق الذرة الأوروبى كما يتضح من جدول (12-7).

جدول (12-7): العلاقة بين طبيعة المقاومة للحشرات وظهور السلالات الفسيولوجية الجديدة القادرة على كسر المقاومة.

طبيعة المقاومة	المحصول	الحشرة	وجود السلالات القادرة على كسر المقاومة
وجود شعيرات كثيفة بالأوراق	الحبوب	خنفساء الأوراق	-
		الجاسيد	-
		حفارات الساق	-
السيقان المصمتة	القمح	ذبابة الساق المنشارية	-
المحتوى المرتفع من السيلكا	الأرز	حفار الساق	+
نقص عناصر غذائية	الأرز	نطاطات النبات	-
مضادات حيوية كيميائية:			
Gossypol	القطن	عدة حشرات	-
Saponins	البرسيم الحجازى	المن	-
Benzyl Alcohol	الحبوب	البقة الخضراء	+
BIMBOA	الذرة	حفارات ساق الذرة الأوروبى	-
عوامل غير معروفة	القمح	ذبابة هسيان	+
	الراسبرى	المن	+
	الصليبيات	المن	+

(+): توجد السلالات، و (-): لا توجد السلالات.

تطبيق نظرية الجين للجين على المقاومة للحشرات

تعرف سلالات من حشرة ذبابة هسّيان Hessian Fly أكثر مما يعرف من أية حشرة أخرى تصيب النباتات، كما أنها أكثر الحشرات التى درست فيها وراثة الضراوة، وطبقت عليها نظرية الجين للجين. وقد وجد أن صفة الضراوة فى هذه الحشرة يتحكم فيها خمسة جينات متنحية أعطيت الرموز a، و k، و m، و s، و t، كما عرفت ثمان سلالات للحشرة (أعطيت الرموز GP، و A، و B، و C، و D، و E، و F، و G) تختلف فى التركيب الوراثى لجينات الضراوة فيها حسب قدرتها، أو عدم قدرتها على إصابة خمسة أصناف من القمح، كما هو مبين فى جدول (12-8).

جدول (12-8): التركيب الوراثى الخاص بالضراوة لثمانى سلالات من ذبابة هسّيان وعلاقة ذلك بقدرتها، أو عدم قدرتها على إصابة خمسة أصناف من القمح(أ).

	صنف القمح				
السلالة	Turkey	Seneca	Monon	Knox 62	Abe
Gp	tt	S-	M-	K-	A-
A	tt	ss	M-	K-	A-
B	tt	ss	mm	K-	A-
C	tt	ss	M-	kk	A-
D	tt	ss	mm	kk	A-
E	tt	S-	mm	K-	A-
F	tt	S-	M-	kk	A-
G	tt	S-	mm	kk	A-

أ- إن سلالات ذبابة هسّيان التى تكون متنحية أصيلة فى أى من الجينات المبينة تحت الأصناف تكون قادرة على إصابة الأصناف التى تحمل آليلاً واحدًا سائدًا - على الأقل - على الموقع المقابل الذى يتحكم فى المقاومة.

أُخِذت رموز جينات الضراوة فى الحشرات من الحرف الأول فى اسم كلٍ من أصناف القمح الخمسة المفرَّقة، علما بأن الموقع الجينى المتنحى الأصيل يعنى قدرة الحشرة على إصابة الصنف الذى يختص به هذا الجين. فمثلا .. نجد أن جميع سلالات الحشرة تكون قادرة على إصابة الصنف Turkey الذى لا يحمل أى جينات للمقاومة، وجميعها تحمل الجين t بحالة متنحية أصيلة. وفى المقابل .. نجد أن جميع سلالات الحشرة غير قادرة على إصابة الصنف Abe؛ لأن أيًّا منها لا تحمل الجين A بحالة متنحية أصيلة، وهو جين الضراوة اللازم توفره فى الحشرة لكسر مقاومة الصنف Abe. هذا .. بينما تكون كل واحدة من السلالات الأخرى قادرة على إصابة بعض أصناف القمح الخمسة، وغير قادرة على إصابة بعضها الآخر حسب تركيبها الوراثى.

فمثلا .. نجد أن سلالة الحشرة GP غير قادرة على إصابة أى من أصناف القمح Seneca، أو Monon، أو Knox 62؛ لأنها لا تحمل جينات الضراوة التى تمكنها من إصابة هذه الأصناف بحالة متنحية أصيلة، هذا بينما نجد السلالة A قادرة على إصابة الصنف Seneca؛ لأنها تحمل جين الضراوة - الذى يجعلها قادرة على إصابة هذا الصنف وهو الجين ss - بحالة متنحية أصلية. ويلخص جدول (12-9) حالة المقاومة أو القابلية للإصابة فى أصناف القمح الخمسة لسلالات الحشرة الثمانى (عن Gallun & Kush 1980).

جدول (12-9): استخدام الأصناف المفرَّقة Differential Varieties من القمح للتمييز بين سلالات حشرة ذبابة هسيان(أ).

		سلالات الحشرة وجينات الضراوة التى تحملها(ب)							
أصناف القمح	جين المقاومة	GP (لا توجد)	A (s)	B (s,m)	C (s,k)	D (s,m,k)	E (m)	F (k)	G (m,k)
Turkey	(لا توجد)	S	S	S	S	S	S	S	S
Seneca	(H7&H8)	R	S	S	S	S	R	R	R
Monon	(H3)	R	R	S	R	S	S	R	S
Knox 62	(H6)	R	R	R	S	S	R	S	S
Abe	(H5)	R	R	R	R	R	R	R	R

(أ) S = قابل للإصابة (Susceptible)، و R = مقاوم (Resistant)

(ب) الحروف الكبيرة ترمز إلى سلالات الحشرة، والحروف الصغيرة خاصة بجينات الضراوة التى تحملها كل من هذه السلالات بحالة متنحية أصيلة؛ فمثلا .. تحمل السلالة D جينات الضراوة s، و m، و k بحالة متنحية أصيلة، أى إن تركيبها الوراثى: ss mm kk.

ومن الأمثلة الأخرى لتطبيق نظرية الجين للجين فى المقاومة الحشرية تعدد جينات المقاومة فى الأرز ضد نطاط النباتات البنى brown planthopper (وهو: Nilaparavata lugens)، الذى يعد من أخطر الحشرات التى تصيب الأرز فى كافة مناطق زراعة الأرز فى آسيا، فضلاً عن نقله لنباتات الأرز فيرس grassy stunt virus. يتوفر فى جيرمبلازم الأرز تسعة جينات لمقاومة النطاط الذى تعرف منه أربع سلالات تتفاعل مع جينات المقاومة على النحو المبين فى جدول (12-10).

جدول (12-10): جينات المقاومة لنطاط النباتات البنى فى الأرز وتفاعلاتها مع السلالات المختلفة من الحشرة (عن Kush 1992).

		التفاعل مع السلالات(أ)			
الجين	**الكروموسوم الحامل له**	**1**	**2**	**3**	**4**
Bph-1	**4**	**R**	**S**	**R**	**S**
bph-2	**4**	**R**	**R**	**S**	**S**
Bph-3	**10**	**R**	**R**	**R**	**R**
bph-4	**10**	**R**	**R**	**R**	**R**
bph-5	**-**	**S**	**S**	**S**	**R**
Bph-6	**-**	**S**	**S**	**S**	**R**
bph-7	**-**	**S**	**S**	**S**	**R**
bph-8	**-**	**R**	**R**	**R**	**-**
Bph-9	**-**	**R**	**R**	**R**	**-**

أ: R = مقاوم resistant، و S = قابل للإصابة susceptible.

طرق التربية

تتبع فى تربية النباتات لمقاومة الحشرات والأكاروسات الطرق ذاتها التى أسلفنا بيانها تحت موضوع الطرق المتبعة فى التربية لمقاومة الأمراض، ونقتصر المناقشة هنا على الأمور ذات الخصوصية بالنسبة للحشرات والأكاروسات.

وسائل تجنب حدوث كسر فى المقاومة للحشرات

على الرغم من وجود تقارير تتعلق بظهور طرز بيولوجية حشرية جديدة كانت قادرة على كسر المقاومة، إلاّ أن انتشار تلك الطرز على نطاق جغرافى واسع يعد أمرًا نادر الحدوث؛ ولذا .. فإن حالات كسر المقاومة للحشرات تعد نادرة الحدوث، وعلى الرغم من ذلك فإنه يمكن اتخاذ بعض الإجراءات التى تزيد من تأمين فاعلية المقاومة، كما يلى:

1 - قد تتحكم جينات مختلفة للحشرة الواحدة فى صفات مختلفة، مثل عدم التفضيل، والتضادية الحيوية، والتحمل، وفى مثل تلك الحالات يفيد نقل أكثر من جين للمقاومة فى الصنف الواحد فى جعل المقاومة أشد ثباتًا.

2 - تفضيل اللجوء إلى المقاومة المتعددة الجينات عن المقاومة البسيطة، إلاّ أن المقاومة البسيطة التى تعرف بثباتها تكون أكثر تفضيلاً نظرًا لسهولة التعامل معها فى برامج التربية عن المقاومة الكمية.

3 - يمكن اللجوء إلى الأصناف المتعددة السلالات كما فى حالة المقاومة للأمراض.

4 - يمكن كذلك اللجوء إلى تبادل زراعة الأصناف التى تحمل جينات مختلفة للمقاومة فى دورة زراعية (عن Singh 1993).

نقل المقاومة من الأنواع البرية

يبين جدول (12-11) بعض الأمثلة لحالات ناجحة لنقل المقاومة الحشرية من الأنواع البرية إلى الأنواع المنزرعة.

جدول (12-11): أمثلة لبعض جينات المقاومة للحشرات التى نقلت من الأنواع البرية إلى المحاصيل الزراعية (عن Panda & Khush 1995).

النوع المحصولى	النوع البرى	الحشرة المقاومة
القمح (Triticum aestivum)	Secale cereale	البقية الخضراء
	Secale cereale	ذبابة هسّيان
	Aegilops squarrosa	ذبابة هسّيان
الأرز (Oryza sativa)	Oryza officinalis	نطاط النبات البنى
	Oryza officinalis	نطاط النبات ذو الظهر الأبيض
	Oryza australiensis	نطاط النبات البنى
	Oryza minuta	نطاط النبات البنى
الفول السودانى (Arachis hypogaea)	Arachis monticola	الحشرات القارضة
الخس (Lactuca sativa)	Lactuca virosa	المن
القطن (Gossypium hirsutum)	Gossypium armourianum	سوسة اللوز، ودودة الورق، ودودة اللوز

تطوير الأصناف التجارية المقاومة

من الأمثلة الناجحة على تطوير أصناف جديدة محسنة مقاومة للحشرات، ما يلى (عن Singh 1993).

المحصول	الصنف	الحشرة المستهدفة بالمقاومة
العنب	أصول جذرية	الفيلّوكسيرا Phylloxera
	> 23 صنف	ذبابة هسيان
القمح	Rescue	ذبابة الساق المنشارية
الشعير	Will	البقة الخضراء
البرسيم الحجازى	Cody، و Mopa، و Zia	منّ البرسيم الحجازى المبقع
القطن	2 Khandwa وأصناف أخرى عديدة	الجاسيد
	Sharda وأصناف أخرى عديدة	دودة اللوز (تحمل الإصابة)
	Kanchana، و Supriya	الذبابة البيضاء (تحمل الإصابة)
الراسبرى	عدة أصناف	المن
الخس	عدة أصناف	من الجذور
التفاح	عدة أصناف	المن الصوفى

تعدد المقاومة

من أبرز الأمثلة على تعدد المقاومة للحشرات فى الصنف الواحد تلك التى أُدخلت فى بعض أصناف الأرز التى أُنتجت فى معهد بحوث الأرز الدولى فى الفيليبين (جدول 12-12).

جدول (12-12) (صفحة عرضية)

جدول (12-12): المقاومة للأمراض والحشرات التى أدخلت فى أصناف الأرز التى أنتجت بمعهد بحوث الأرز فى الفيليبين (عن Panda & Khush 1995).

الصنف	التفاعل الحشرى أو المرضى							
	Gall midge	ناخر الساق	نطاط النبات البنى	نطاط الأوراق الأخضر	*Grassy stunt*	*Tungro*	اللفحة البكتيرية	العصفة
IR5	S	MR	S	R	S	S	S	MR
IR8	S	S	S	R	S	S	S	S
IR20	S	MR	S	R	S	S	R	MR
IR22	S	S	S	S	S	S	R	S
IR24	S	S	S	R	S	S	S	S
IR26	S	MR	R	R	S	MR	R	MR
IR28	S	MR	R	R	R	R	R	R
IR32	R	MR	R	R	R	R	R	MR
IR36	R	MR	R	R	R	R	R	MR
IR38	R	MR	R	R	R	R	R	MR
IR42	R	MR	R	R	R	R	R	MR
IR46	R	MR	R	R	R	R	R	MR
IR50	--	S	R	R	R	R	R	S
IR54	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR58	--	S	R	R	R	R	R	MR
IR60	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR62	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR64	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR66	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR68	--	MR	R	R	R	R	R	MR
IR72	--	MR	R	R	R	R	R	MR

MR = متوسط المقاومة **moderately resistant**، و **R** = مقاوم **resistant**، و **S** = قابل للإصابة **susceptible**، و – = غير معروف.

مصادر إضافية عامة عن المقاومة للحشرات والأكاروسات

نذكر - كمراجع عامة - عن المقاومة للآفات فى النباتات ما يلى:

المرجع	الموضوع
Painter (1951)	شامل حتى عام 1951
Painter (1958)	مكمل للمرجع السابق حتى عام 1958
Maxwell وآخرون (1972)	مكمل للمرجع السابق حتى عام 1972
Russell (1978)	شامل
Maxwell & Jennings (1980)	شامل
Harris (1980)	شامل
Tingey (1980)	محاصيل الخضر
Daubeny (1983)	الفاكهة
Hedin (1983)	شامل
Van Emden (1987)	شامل

الفصل الثالث عشر

الهندسة الوراثية لمقاومة الحشرات

استراتيجيات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات

إن من أهم الاستراتيجيات التى قامت عليها الهندسة الوراثية للنبات لمقاومة الحشرات، ما يلى:

1 – التعبير عن السم الحشرى δ-endotoxin الخاص بالبكتيريا Bacillus thuringiensis فى النباتات (من ذوات الفلقتين وحديثًا ذوات الفلقة الواحدة كذلك) لمقاومة يرقات حرشفية الأجنحة، والتى من أمثلتها: دودة ورق القطن، والدودة الخضراء، وديدان اللوز، ودودة ثمار الطماطم، والديدان القياسية، والدودة الدبوسية، وفراشة درنات البطاطس، وثاقبات الذرة ... إلخ.

2 – التعبير عن مثبطات إنزيم البروتييز protease، مثل الـ trypsin inhibitor، وهى التى تفيد فى مكافحة عديد من اليرقات الحشرية.

3 – التعبير عن بروتينات أخرى، مثل:

أ – اللكتينات lectins وهى التى تتواجد بكثرة فى بذور عديد من النباتات، وتلعب دورًا فى دفاع النباتات ضد الإصابات المرضية والحشرية.

ب – مثبط الألفا أميليز α-amylase inhibitor، وهو الذى يتواجد طبيعيًّا فى بذور الفاصوليا، ويلعب دورًا فى حمايتها من الإصابة بخنفساء اللوبيا.

جـ – إنزيم cholestrol oxidase الذى عزل من الـ Streptomyces ووجد له نشاط فعال فى مكافحة ديدان اللوز.

د – بروتينات أخرى عديدة فعالة ضد بعض الحشرات التى تقاوم الـ δ-endotoxin – مثل دودة جذور الذرة والدودة القارضة – وتفرز طبيعيًّا بواسطة بعض أنواع البكتيريا، مثل: Bacillus cereus، و B. thuringiensis (عن Koziel وآخرين 1998).

لقد أمكن التعرف على عديد من تلك البروتينات ذات الأصل النباتى القاتلة للحشرات (مثل اللكتينات lectins، ومثبطات البروتييز protease inhibitors) التى يمكنها تثبيط نمو وتطور الحشرات عندما تتغذى عليها بكميات كبيرة. كذلك أمكن عزل بعض الجينات التى تشفر لإنتاج عدد من تلك البروتينات، مثل: CpTi، و PIN-I، و PIN-II، و αAI، و GNA، وهى تستعمل فى برامج الهندسة الوراثية؛ بهدف التربية لمقاومة الحشرات.

وقد وجد أن الجينات التى تكسب النباتات مقاومة ضد آفات أخرى غير حشرية تجعلها – كذلك – مقاومة لبعض الحشرات، ومن أمثلة ذلك جين الطماطم Mi-1 الذى يكسبها مقاومة لنيماتودا تعقد الجذور، والذى وجد أنه يكسب النباتات – كذلك – مقاومة لمن البطاطس (عن Chahal & Gosal 2002).

وربما كانت أسرع وسيلة للتوصل إلى نوعيات جديدة من البروتينات ذات التأثير السام على الحشرات – لأجل استخدامها فى عمليات التحول الوراثى للنباتات بهدف مقاومة الحشرات – هى بغربلة أكبر عدد ممكن من البروتينات من أى مصدر كان، كالأنسجة النباتية وإفرازات الكائنات الدقيقة، حيث تضاف العينات البروتينية إما مفردة، وإما فى مجموعات إلى الغذاء الذى تُربى عليه الحشرات الهامة المعنية بالمقاومة. وعندما تُظهر إحدى العينات تأثيراً ساماًّ على الحشرة فإنه يتم – بوسائل الفصل المختلفة وإعادة الاختبار – تحديد البروتين المسئول عن هذا التأثير والتأكد من كونه بروتين فى طبيعته، ويلى ذلك عزل الجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين واستخدامه فى عمليات التحول الوراثى.

وباتباع هذه الطريقة .. تمكن Corbin وآخرون (1998) من التوصل إلى أن البروتين cholesterol oxidase ذات الأصل الميكروبي كان له تأثيراً ساماً على سوسة اللوز بالقطن cotton boll weevil (Anthonomus grandis grandis). ويعتقد الباحثون أن تحويل القطن وراثياً بالجين المسئول عن إنتاج هذا الإنزيم ربما يلعب دوراً كبيراً فى مقاومة تلك الآفة.

جينات المقاومة الطبيعية

تعرف استراتيجية التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بواسطة جينات المقاومة التى توجد بصورة طبيعية فى أنواع نباتية أخرى باسم نَسْخ الطبيعة copy nature، وهى تتضمن الخطوات التالية:

1 – البحث عن مصادر المقاومة الحشرية فى الطبيعة.

2 – تنقية البروتين المسئول عن المقاومة فى كل حالة منها، ودراسة ما إن كان له نظير فى النبات الموديل Arabidopsis أم لا.

3 – إجراء اختبارات السمية على الحشرة باستعمال البروتين النقى.

4 – إجراء اختبارات السمية على الحيوانات – ومن ثم على الإنسان – باستعمال البروتين النقى.

5 – التعرف على الجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين ونقله بطرق الهندسة الوراثية إلى النوع النباتى المطلوب.

6 – بعد التأكد من ثبات الصفة المنقولة فى الـ T1، والـ T2 (الجيلان الـ transformed الأول والثانى) تجرى الاختبارات البيولوجية على كل من السمية على الحشرة المعنية والحيوانات – ومن ثم على الإنسان – مرة أخرى (عن Slater وآخرين 2003).

ويفيد تهريم pyramiding الجينات فى النباتات فى زيادة مقاومتها للأمراض والحشرات، وفى الحد من حالات كسر المقاومة، حيث يؤدى التهريم - بعدة جينات للمقاومة متنوعة التأثير - إلى الحد كثيراً جدًّا - إلى درجة الانعدام - من فرصة ظهور عدة طفرات مناظرة - فى آن واحد - يمكنها كسر كل عوامل المقاومة التى توفرها تلك الجينات، علمًا بأن الطفرة التى تؤدى إلى كسر أحد عوامل المقاومة لا يمكنها البقاء لوجود عوامل المقاومة الأخرى فى النبات.

هذا .. وقد يزيد تهريم جينات المقاومة من شدة المقاومة إما بطريقة تراكمية، وإما بطريقة تداؤبية synergistic (عن Gatehouse 1999).

ويعرف حاليًّا أكثر من 40 جينًا لمقاومة الحشرات تم نقلها - من مصادر مختلفة - إلى النباتات لأجل إنتاج أصناف مقاومة، ومن بين أهم الجينات التى استخدمت فى هذا المجال، ما يلى:

الجين	المصدر الأصلى للجين
Bt	**Bacillus thuringiensis**
isopentyl transferase (ipt)	**Agrobacterium tumefaciens**
cholesterol oxidase	**Streptomyces spp.**
Pht	**Photorhabdus luminescens**

هذا .. بالإضافة إلى جينات المقاومة للحشرات التى حُصل عليها من النباتات الراقية، والتى تتحكم فى إنتاج البروتينات التالية:

1 - مثبطات البروتينيز proteinase inhibitors.

2 - مثبطات الأميليز amylase inhibitors.

3 – اللكتينات lectins، مثل لِكتين زهرة اللبن الثلجية snowdrop lectin، ولِكتين البسلة، ولِكتين الأرز ... إلخ.

كذلك حُصل على جينات المقاومة من أصول حيوانية، مثل مثبطات البروتينيز من السيرين serine proteinase inhibitors، التى حصل عليها من كل الثدييات وحرشفية الأجنحة Manduca sexta (وهى الـ tobacco hornworm) (عن Chawla 2000).

وقد اتجه الباحثون – لأجل مكافحة الحشرات بطرق الهندسة الوراثية – إلى محاولة هندسة التعبير عن البروتينات ذات التأثير القاتل للحشرات (insecticidal proteins)، ونشط الباحثون فى البحث عنها فى كل من النباتات وغيرها من الكائنات الحية. ومن بين البروتينات ذات التأثير القاتل للحشرات ذات الأصل النباتى التى أمكن رصدها، ما يلى:

polyphenol oxidases	chitinases
trypsin inhibitors	anionic peroxidases
proteinase inhibitors	α-amylase inhibitors
	lectins

ولقد وجد أن الـ chitinases تحلل المكونات الشيتينية بالقناة الهضمية للحشرات. وتولد الـ polyphenol oxidases مركبات كيميائية ذات تأثير معتدل السمية على الحشرات من مكونات غذاء الحشرة. أما الـ trypsin، والـ α-amylase، والـ proteinase inhibitors فإنها تتعارض مع الإنزيمات الهاضمة بالحشرة، بينما ترتبط الـ lectins بكل من عديدات التسكر oligosaccharides و الـ glycosylated proteins، بما يتعارض مع عملية الهضم. ولقد أنتجت نباتات محولة وراثيًّا تنتج تلك المركبات وتم اختبارها، إلاّ أن مستوى مقاومة الحشرة – فى كل حالة – لم يبرر إنتاجها تجاريًّا؛ ففى معظم الحالات تتأقلم الحشرة – تدريجيًّا – على الوضع غير المناسب لها فى النبات المحول وراثيًّا (Bent & Yu 1999).

ومن بين مركبات الأيض الثانوية التى وجد أنها تلعب دورًا فى مقاومة الحشرات، ما يلى:

1 – الجلوكوسيدات السيانوجينية cyanogenic glucosides، والجلوكوسينولات glucosinolates.

2 – أحماض الأيدروكسامك الحلقية cyclic hydroxamic acids: تلعب هذه الأحماض دورًا فى دفاع بادرات الذرة والقمح والراى الصغيرة ضد الإصابات البكتيرية والفطرية والحشرية.

3 – البيرثرين pyrethrin.

4 – الروتينون rotenone.

5 – الأميدات غير المشبعة unsaturated amides (عن Chilton 1997).

هذا .. ومن المعروف أن إنزيمات البيروكسيديز peroxidases، والليبوكسى جينيز lipoxygenases، والبـولى فينول أوكسيديز polyphenol oxidases تلعب دورًا فى مقاومة الحشرات (عن Gatehouse 1999).

مثبطات البروتينيز

من المعلوم أن إنزيم البروتينيز proteinase يتواجد فى الجهاز الهضمى للحشرات، وعلى ذلك فإن تواجد مثبطات البروتينيز proteinase inhibitors فى غذاء الحشرة يؤثر فيها سلبيًّا، ويعتقد على نطاق واسع أن وجود تلك المثبطات فى النباتات يوفر لها حماية ضد الحشرات.

تنتشر مثبطات إنزيمات البروتينيز فى المملكة النباتية انتشارًا واسعًا، وتتوفر بكثرة بصفة خاصة – فى البذور وأعضاء التخزين، حيث تتراكم - أحيانًا - إلى ما يقرب من 1% إلى 10% من البروتين الكلى بها. تتباين تلك البروتينات فى الوزن الجزيئى ما بين 4000 إلى 80000، ولكن معظمها يتراوح بين 8000، و 20000. ومن أكثر هذه المثبطات انتشارًا تلك التى تعرف باسم السيرين بروتييز serine protease، وهى التى يقع الوزن الجزيئى لمعظمها فى حدود هذا المدى الأخير، حيث يبلغ فى غالبيتها 10000 (عن Gatchouse 1999).

من أمثلة إنزيمات البروتينيز المعروفة تلك التى تعرف باسم الـ metallo proteinases لكل من: السيرين serine، والسيستين cysteine، والأسبارتك aspartic. تعمل تلك الإنزيمات على إطلاق الأحماض الأمينية من البروتين الموجود بالغذاء؛ وهى التى تكون حاسمة بالنسبة للنمو والتطور الطبيعيين للحشرة، بينما تعمل مثبطات البروتينيز على حرمان الحشرات من تلك الأحماض الأمينية من خلال تعارضها مع الإنزيمات الهاضمة للحشرة.

إن مثبطات إنزيمات البروتينيز ذات الأصل النباتى يمكنها تثبيط تلك الإنزيمات فى كل من الحيوانات، والبكتيريا، والفطريات، ولكنها نادرًا ما تؤثر على الإنزيمات المماثلة فى النبات (عن Chawla 2000).

لقد كان أحد تلك المثبطات، وهو الـ cowpea trypsin inhibitor (اختصارًا: CpTI) أول ما استخدم – من بين مختلف مثبطات البروتينيز – فى دراسات الهندسة الوراثية، وذلك فى محاولة لمكافحة سوسة بذور اللوبيا Callosobruchus maculatus (عن Watt وآخرين 1999).

يُعطى هذا الجين الرمز CpTI، وهو أكثر المثبطات المعروفة تأثيرًا. ينتج هذا الجين مركبات مضادة للأيض antimetabolite substances توفر حماية للوبيا ضد أهم خنافس البذور، وهى الـ Bruchid beetle (Callosobruchus maculatus). كذلك يعتبر هذا الجين ضارًا بحشرات متباينة كثيراً (جدول 13-1) مثل: Heliothis virescens، و Manduca sexta (وهما من حرشفيات الأجنحة Lepidopteran)، وكلا من Callosobruchus، و Anathomus grandis (وهما من غمديات الأجنحة Coleopteran)، و Locusta migratoria (وهو مستقيم الأجنحة Orthopteran)، ولكنه ليس ضارًا بالثدييات (عن King 1990، و Chawla 2000).

جدول (13-1): الحشرات التى تؤثر فيها مثبطات التربسن المتحصل عليها من اللوبيا والتى يشفر لإنتاجها الجين CpTI (عن Gatehouse وآخرين 1992).

الرتبة	الحشرة	المحاصيل الرئيسية التى تصاب بالحشرة
حشرات حقلية		
Lepidoptera	Heliothis virescens	التبغ والقطن
	Heliothis zea	الذرة والقطن والفاصوليا والتبغ
	Helicoverpa armigera	القطن والفاصوليا والذرة والسورجم

	Spodoptera littoralis	الذرة والأرز والقطن والتبغ
	Chilo partellus	الذرة والسورجم وبنجر السكر والأرز
	Autographa gamma	بنجر السكر والخس والكرنب والفاصوليا والبطاطس
	Manduca sexta	الطماطم والتبغ والبطاطس
Orthoptera	Locusta migratoria	النجيليات
Coleoptera	Diabrotica undecimpunctata	الذرة
	Costelytra zealandica	النجيليات والبرسيم
	Anthonomus grandis	القطن
حشرات المخازن		
Coleoptera	Callosobruchus maculatus	اللوبيا وفول الصويا
	Tribolium confusum	معظم الزهور

ولقد أمكن عزل الجين CpTI واستعمل عن طريق فيرس موزايك القنبيط فى تحويل التبغ وراثيًّا؛ مما أدى إلى اكتسابه مقاومة واضحة لدودة لوز القطن Helicoverpa zea، مقارنة بنباتات الكنترول غير المحولة وراثيًّا (عن Chawla 2000).

هذا .. إلاّ أنه على الرغم من أن النباتات التى عُدِّلت وراثيًّا بجين اللوبيا CpTI احتوت على البروتين المثبط للتربسن بكميات وصلت إلى نحو 1% من البروتين الكلى الذائب، وعلى الرغم من أن الحماية التى وفرها هذا البروتين ضد حشرات مثل Heliothis zea، و Spodoptera littoralis كانت معنوية، إلاّ أنها لم تصل إلى المستوى المناسب للمكافحة الجيدة التى يرضى عنها المزارعون (عن Gatehouse 1991).

هذا .. ويعطى جدول (13-2) قائمة بعدد من الأنواع المحصولية التى حولت وراثيًّا بجينات مختلفة من مثبطات البروتينيز، والأنواع الحشرية التى قاومتها تلك الأنواع المحصولية.

مثبطات الأميليز

اكتشفت مثبطات الألفا الأميليز α-amylase inhibitors فى عدد من الحبوب النجيلية، ووجد أن لبعضها وظيفة مزدوجة، حيث أظهرت - كذلك - نشاطًا مضادًّا للتربسن. هذا .. وبحصول الحشرات على مثبطات الألفا أميليز ضمن غذائها، فإن ذلك يتعارض مع نشاط إنزيمات الألفا أميليز بها؛ بما يخل بعملية تحلل النشا (عن Watt وآخرين 1999).

ومن المعلوم أن بذور الفاصوليا تتميز بمقاومتها للسوس، مثل سوسة اللوبيا Callosobruchus maculatus، وسوسة فاصوليا أدزوكى C. chinensis، الأمر الذى يرجع إلى احتواء البذور على ذلك البروتين: α-AI-Pv، المثبط لإنزيم الألفا أميليز، والذى يعد سامًّا ليرقات تلك الحشرات.

ولقد أمكن تحويل البسلة وراثيًّا بالجين المسئول عن إنتاج هذا البروتين باستخدام promoter خاص بالبذور؛ حيث كان التعبير عنه فى بذور البسلة بالدرجة ذاتها التى يُعَبَّرُ بها عنه فى بذور الفاصوليا، كما كانت بذور البسلة المحولة وراثيًّا مقاومة - مثل الفاصوليا - لكلا النوعين من الحشرات (Shade وآخرون 1994).

جدول (2-13): جينات مضادات البروتينيز التى استخدمت فى هندسة بعض الأنواع المحصولية وراثيًا لمقاومة بعض الأنواع الحشرية (عن Gatehouse 1999).

النوع المحصولى المحول وراثيًا	الجينات	الحشرات التى تمت مقاومتها
التبغ	CpTI	Heliothis virescens
	Pot PI II	Lepidoptera
	CpTI + p-lec	Heliothis virescens
	Na PI	Helicoverpa punctigera
البطاطس	CpTI	Lacanobia oleracea
الطماطم	Pot PI I	Helicoverpa armigera
		Teleogryllus commodus
	Pot PI II	Helicoverpa armigera
		Teleogryllus commodus
	CpTI	
الأرز	Pot PI II	Sesamia inferens
		Chilo suppressalis
	CpTI	Sesamia inferens

		Chilo suppressalis
الفراولة	CpTI	Otiorhynchus sulcatus
الخس	CpTI	
	Pot PI II	Teleogryllus commodus
البطاطا	CpTI	
لفت الزيت	CpTI	
	OC-I	Coleoptera
	CII	Lepidoptera
		Diptera
القطن	M. S PI	Bemisia tabaci
البرسيم الحجازى	M. S PI	Thrips
التفاح	CpTI	Cydia pomenella
الحور	OC-1	Chrysomela tremulae
	CII	Lepidoptera
البتولا Birch	Pot PI II	

CpTI = cowpea trypsin inhibitor; CII = double headed serine protease inhibitor from soybean; Na PI = Nicotiana alata protease inhibitor; OC-1 = oryzacystatin; Pot PI II = Potato proteinase inhibitor II; Pot PI I = Potato proteinase inhibitor I; p-lec = pea lectin.

وقد أدى تحويل فاصوليا أدزوكى adzuki bean (وهى Vigna angularis) وراثيًّا بجين الفاصوليا – الذى يشفر لتمثيل مثبط إنزيم الألفا أميليز α-amylase inhibitor – إلى جعلها مقاومة كليًّا – مثل الفاصوليا – لكل من سوستى البذور Callosobruchus chinensis، و C. analis، ولكنها – ومثل الفاصوليا كذلك – لم تكن مقاومة للسوسة Zabrotes subfaciatus، هذا .. مع العلم بأن إنزيم الألفا أميليز يوقَف نشاطه فى معى السوستين: C. chinensis، و C. analis بفعل مثبط الإنزيم (Ishimoto وآخرون 1996).

كذلك أمكن التعبير عن ثلاثة جينات لمثبطات الألفا أميليز فى التبغ، حيث أظهرت نشاطًا مضادًّا لحشرات غمدية الأجنحة (عن Watt وآخرين 1999).

اللكتينات النباتية

إن اللكتينات lectins عبارة عن بروتينات ذات تركيب خاص، تتواجد فى الطبيعة فى كل من النباتات، والحيوانات، والحشرات، والكائنات الدقيقة، ويعتقد بأن من وظائفها فى النباتات حمايتها من الإصابات الحشرية، حيث ترتبط بالسكريات وتؤثر على أيض المواد الكربوهيدراتية فى عديد من الأنواع الحشرية. وتعرف أنواع عديدة من اللكتينات (جـدول 13-3)، ومن أكثرها انتشارًا تلك التى تتراكم فى بذور البقوليات، والتى قد يصل تركيزها إلى حوالى 3%، كما فى بذور الفاصوليا.

ولقد عرفت سمية تلك المركبات للثدييات والطيور منذ فترة طويلة. كذلك وجد أن تلك اللكتينات ترتبط بالخلايا المبطنة لمعى الديدان الحشرية، مما يؤثر فيها، ويعطل عملها، ويزيد من فرصة مرور المركبات الضارة للحشرة من خلالها (عن Gatehouse وآخرين 1992).

ولقد أظهرت اللكتينات المتخصصة على المانّوز mannose-specific lectins خصائص مثبطة قوية ضد الحشرات الثاقبة الماصة، مثل المن، والذبابة البيضاء، ونطاطات النباتات، ونطاطات الأوراق، وأمكن عزل تلك المثبطات من نباتات مختلفة، مثل نبات زهرة اللبن الثلجية snowdrop، والنرجس البرى daffodil (وهو: Narcissus pseudonarcissus)، والثوم (عن Watt وآخرين 1999).

جدول (3-13): أهم اللكتينات النباتية ذات التأثير القاتل على الحشرات inceticidal plant lectins (عن Gatehouse 1999).

الرتبة الحشرية	الحشرة	اللكتين	السكر الذى يتخصص عليه اللكتين
Lepidoptera	Ostrinia nubilalis	Castor bean	GalNAc
		Camel's foot tree	GalNAc
		Wheatgerm (WGA)	GalNAc
	Lacanobia oleracea	Snowdrop (GNA)	Mannose

Complex carbohydrates	Bean (PHA)	Callosobruchus	Coleoptera
GlcNAc	Winged bean	maculatus	
GlcNAc	Griffonia		
GalNAc & GlcNAc	Various sources		
GlcNAc	Rice		
GlcNAc	Stinging nettle (UDA)		
Mannose	Snowdrop (GNA)		
2,6-neuraminyl-gal/GalNAc	Elderberry (SNA-1)		
--	Bean (Arcelin)	Zabrotes subfaciatus	
GalNAc & GlcNAc	Various sources	Diabrotica	

Mannose	**Snowdrop (GNA)**	**Undecimpunctata**	
Mannose	**Snowdrop (GNA)**	**Nilaparvata lugens**	**Homoptera**
GlcNAc	**Wheatgerm (WGA)**		
Glucose/Mannose	**Jackbean (Con A)**	**Acyrthosiphon pisum**	
Mannose	**Snowdeop (GNA)**	**Myzus persica**	
Mannose	**Snowdeop (GNA)**	**Aulacorthum solani**	
GalNAc & GlcNAc	**Various sources**	**Empoasca fabae**	
GlcNAc	**Wheatgerm (WGA)**	**Lucilia cuprina**	**Diptera**
Glucose/Mannose	**Jackbean (Con A)**		

ولعل أهم اللكتينات المعروفة تلك التى عزلت من نبات زهرة اللبن الثلجية snowdrop (الذى يعرف بالاسم العلمى: Galanthus nivalis)، وهى التى نالت حظًّا وافـرًا من اهتمام الباحثين بسبب نشاطها المضاد للمن. ولقد أمكن نقل هذا الجين بطرق الهندسة الوراثية لكل من البطاطس، ولفت الزيت، والطماطم. وأظهرت الدراسات على البطاطس المحولة وراثيًّا والتى عُبِّر فيها عن هذا الجين أنه لا يزيد من معدل موت الحشرات، ولكنه يقلل كثيراً من خصوبتها وتكاثرها. ومن أهم خصائص هذا الجين أنه يؤثر – كذلك – على مختلف الحشرات الثاقبة الماصة الأخرى، ولكن من أهم عيوبه أن لا يكون فعّالاً إلا عندما تتناول الحشرة البروتين الخاص بهذا الجين بكميات كبيرة (عن Chawla 2000).

ويبين جدول (13-4): الأنواع المحصولية التى تم تحويلها وراثيًّا لمقاومة الحشرات بواسطة جينات اللكتينات أو جينات المركبات الشبيهة باللكتينات.

جدول (4-13): الأنواع المحصولية التى حولت وراثيًّا بجينات اللكتينات أو بجينات المركبات الشبيهة باللكتينات lectin-like genes.

النوع المحصولى	الجينات	الحشرات التى تمت مقاومتها
التبغ	GNA	Heliothis virescens
		Myzus persicae
	p-lec	Heliothis virescens
	CpTI + p-lec	
البطاطس	GNA	Lacanobia oleracea
		Myzus persicae
		Aulacorthum solani
	GNA + BCH	Myzus persicae
		Aulacorthum solani
الطماطم	GNA	Lacanobia oleracea
الأرز	GNA	Nilaparvata lugens
البطاطا	GNA	

لفت الزيت	GNA	
البسلة	a-AI	Zabrotes subfaciatus
		Bruchus pisorum
فاصوليا أدزوكى	a-AI	Callosobruchus chinensis

GNA = snowdrop lectin; p-lec = pea lectin; CpTI + p-lec = cowpea trypsin inhibitor + pea lectin; GNA + BCH = snowdrop lectin + bean chitinase; a-AI = bean α-amylase inhibitor.

وربما أمكن كذلك الاستفادة من الجين المسئول عن تمثيل البروتين أجلوتينين agglutinin، الذى يصنع فى جنين حبة القمح، والذى يعد من اللكتينات lectins المقيدة والرابطة للشيتين chitin-binding، ويعرف بتثبيطه لنمو يرقات الحشرات التى تتغذى على الأغذية المجهزة المزودة بهذا البروتين. فإذا أمكن نقل هذا الجين إلى الذرة – مثلاً – وعُبِّرَ عنه بقدر كافٍ فإنه قد يجعل النبات مقاومًا لعديد من الحشرات. لكن بالنظر إلى أن هذا البروتين يمنع بعض العمليات الحيوية فى خلايا الإنسان – كذلك – فإنه يتعين ألا يزيد حد التعبير عنه فى النباتات المحولة وراثيًا عن ذلك الذى يتحمله الإنسان (كالمستوى الموجود فى القمح)، أو أن يرافق الجين بآخر ينظم التعبير عنه فى الأجزاء النباتية التى لا يستعملها الإنسان فى غذائه (عن Chrispeels & Sadava 2003).

إن من أهم العوامل المسببة للقلق بشأن استخدام اللكتينات فى عمليات التحول الوراثى هى خصائصها المضارة للتغذية فى أغذية الإنسان والحيوان، وتأثيراتها على الحشرات النافعة غير المستهدفة بها. فعلى سبيل المثال .. أظهرت لكتينات الفاصوليا وفول الصويا تأثيرات سامة مضادة للتغذية على معظم الحيوانات. كذلك من مشاكل الاعتماد على اللكتينات الحاجة إلى تركيزات عالية منها لكى تُحدث تأثيرها السام على الحشرات (عن Czapla 1997).

إنزيمات الشيتينيز

يدخل الشيتين chitin [وهو البوليمر غير المتفرع للـ 2-acetamide-2-deoxy-D-glucopyranoside (أو N-acetylglucosamine، واختصارًا: GlcNAc)] برابطة β-1,4 .. يدخل هذا الشيتين كمكون أساسى فى تركيب الأديم cuticle والغلاف القشرى shells للحشرات، وفى تركيب الجدر الخلوية للفطريات وبعض الطحالب، كما يتواجد فى كل من النيماتودا والرخويات mollusks، وأنواع عديدة من الكائنات.

ونظرًا للأهمية الكبرى للشيتين والإنزيمات الشيتونيلية chitinolytic enzymes فى نمو الحشرات وتطورها، فإن تلك الإنزيمات تحظى بقدر كبير من اهتمام الباحثين فيما يتعلق باستعمالها ذاتها كمبيدات حشرية حيوية، أو بروتينات دفاعية فى النباتات، التى تحول وراثيًّا لهذا الغرض، أو الاعتماد عليها فى كائنات حية دقيقة محولة وراثيًّا بها؛ لتستخدم فى المكافحة الحيوية للحشرات.

وتُعَرَّف إنزيمات الشيتينيز chitinases بأنها إنزيمات ذات نشاط موجه لتحلل بوليمر الشيتين، هذا .. إلاّ أن بعض إنزيمات الشيتنيز تحلل بوليمرات أخرى قريبة، مثل متعددة السكريات التى توجد فى الجدر الخلوية والتى تحتوى على N-acetylglucosamines، و N-acetylmuramates التى يكون فيها الارتباط برابطة β,1-4. يحدث التحلل الإنزيمى عشوائيًّا فى مواقع داخلية على امتداد طول جزئ الشيتين، ويكون المنتج النهائى لعملية التحلل كتل جزيئية قابلة للذوبان فى الماء من الـ GlcNAc، مثل chitotetraose، والـ chitotriose، والـ chitobiose، وجميعها مركبات عديدة التسكر تعد بمثابة مواد يعمل عليها إنزيم شيتونيلى آخر، هو β-N-acetylglucosaminidase الذى يقوم بفصل وحدات الـ GlcNAc عن النهاية غير المختزلة. ولقد وجد كلا النوعين من الإنزيمات فى عدد من الكائنات متضمنة كائنات تحتوى على الشيتين، مثل الحشرات، والقشريات crustaceans، والخمائر، والفطريات، وكذلك فى كائنات لا تحتوى على شيتين، مثل البكتيريا والنباتات الراقية والفقاريات.

تلعب إنزيمات الشيتينيز – فى الحشرات – دورًا فى كل من الانسلاخ والهضم؛ فالحشرات تقوم دوريًّا بطرح أديمها القديم وتمثيل آخر جديد، وتتم تلك العملية بمساعدة إنزيمات الشيتنيز التى تتواجد فى سائل الانسلاخ الذى يتراكم فى المسافة التى تفصل بين الأديم القديم وطبقة البشرة. هذا .. ويعاد استخدام نواتج تحلل الأديم القديم فى تمثيل الجديد، حيث غالبًا ما تقوم الحشرة بتناول تلك النواتج ضمن غذائها، ويبدو أن إنزيمات الشيتينيز التى توجد فى معى اليرقة تلعب دورًا هاضمًا، بالإضافة إلى دورها فى تحليل الشيتين الذى يتواجد فى بطانة المعى.

أما فى الفطريات .. فإن إنزيمات الشيتينيز تساعد فى تحليل المادة العضوية، وربما تفيد فى الحد من نمو الفطريات الأخرى. وفى الخمائر تفيد إنزيمات الشيتينيز فى فصل الخلايا عن بعضها البعض.

إن الدور الذى تلعبه إنزيمات الشيتينيز النباتية معروف جيدًا، ولقد أمكن عزل عديد من إنزيمات الشيتينيز النباتية والميكروبية، ونقل بعضها إلى النباتات؛ حيث أدت إلى زيادة مقاومتها للأمراض الفطرية. هذا .. إلاّ أن الدور الذى تلعبه مختلف الإنزيمات الشيتينية فى مقاومة الحشرات لم يمكن فهمه جيدًا بعد.

ولقد استعملت الإنزيمات الشيتينية البكتيرية فى تحفيز نشاط المبيدات الحشرية الميكروبية، بما فى ذلك **Bacillus thuringiensis**.

ويبدو أن إنزيمات الشيتينيز تلعب دورًا فى اختراق الفطريات الممرضة لأديم العائل.

وتُفْرَز إنزيمات الشيتينيز، والـ **β-N-acetylglucosaminidases** عندما تنمو الفطريات الممرضة للحشرات: **M. anisopliae**، و **B. bassiana**، و **Verticilium lecanii** على أديم الحشرات.

ولا نعرف أى استعمال للإنزيمات الشيتينية النباتية فى مكافحة الحشرات؛ علمًا بأن نباتات الحبوب النجيلية تحتوى على مستويات عالية من الإنزيمات الشيتينية (15-100 ميكروجرام/جم)، ومع ذلك فإن الحبوب المخزنة تكون قابلة للإصابة بالحشرات.

ولقد أمكن عزل الجين المسئول عن تكوين جين الشيتينيز من الحشرة M. sexta، ونقل بطرق الهندسة الوراثية إلى كل من التبغ والطماطم، وعندما ربيت يرقات Heliothis virescens على أوراقها لمدة ثلاثة أسابيع كان نموها يقل بمقدار 80% عن نمو اليرقات التى ربيت على أوراق نباتات عادية غير معدلة وراثيًّا (عن Kramer وآخرين 1997).

هذا .. ويعطى جدول (5-13) قائمة بعديد من الجينات ذات الأصل النباتى التى استعملت فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات.

جدول (5-13) صفحتين

جدول (13-5): الجينات ذات الأصل النباتى التى استخدمت فى مقاومة الحشرات (عن Slater وآخرين 2003)

الجين النباتى	البروتين الذى يشفر له الجين	مصدر الجين	الحشرات الى يؤثر فيها	النباتات التى حولت وراثيًا
Protease	***Inhibited***			
inhibitors	***protease***			
C-II	**Serine protease**	فول الصويا	**Coleoptera, Lepidoptera**	لفت الزيت والحور والبطاطس والتبغ
CMe	**Trypsin**	الشعير	**Lepidoptera**	التبغ
CMTI	**Trypsin**	الكوسة	**Lepidoptera**	التبغ
CpTI	**Trypsin**	اللوبيا	**Coleoptera, Lepidoptera**	التفاح والخس ولفت الزيت، والبطاطس والأرز والفراولة ودوار الشمس والبطاطا والتبغ والطماطم والقمح
14K-CI	**Bifunctional serine**	الحبوب		التبغ
	Protease and			
	α-amylase			
MTI-2	**Serine protease**	المسترد	**Lepidoptera**	الـ **Arabidopsis** والتبغ
OC-1	**Cysteine protease**	الأرز	**Coleoptera, Homoptera**	لفت الزيت والحور والتبغ

PI-IV	Serine protease	فول الصويا	Lepidoptera	البطاطس والتبغ
Pot PI-I	Proteinase	البطاطس	Lepidoptera, Orthoptera	البيتونيا والتبغ
Pot PI-II	Proteinase	البطاطس	Lepidoptera, Orthoptera	البتولا والخس والأرز والتبغ
KTi3, SKTI	Kunitz trypsin	فول الصويا	Lepidoptera	البطاطس والتبغ والأرز
PI-I	Proteinase	الطماطم	Lepidoptera	البرسيم الحجازى والتبغ والطماطم
PI-II	Proteinase	الطماطم	Lepidoptera	التبغ والطماطم

تابع جدول (13-5):

الجين النباق	البروتين الذى يشفر له الجين	مصدر الجين	الحشرات الى يؤثر فيها	النباتات التى حولت وراثيًا
α-Amylase inhibitors				
a-AI-Pv	α-amylase	الفاصوليا	Coleoptera	فاصوليا أدزوكي والبسلة والتبغ
WMAI-I	α-amylase	الحبوب	Lepidoptera	التبغ
14-K-CI	Bifunctional	الحبوب		التبغ
	Serine protease			
	and α-amylase			
Lectins				

العنب ولفت الزيت والبطاطس و الأرز والبطاطا وقصب السكر ودوار الشمس والتبغ	**Homoptera, Lepidoptera**	**زهرة اللبن الثلجية**	**Lectin**	**GNA**
البطاطس والتبغ	**Homoptera, Lepidoptera**	**البسلة**	**Lectin**	**p-lec**
الذرة	**Lepidoptera, Coleoptera**	**جنين القمح**	**Agglutinin**	**WGA**
الذرة	**Lepidoptera, Coleoptera**	**Jack fruit**	**Lectin**	**Jacalin**
الذرة	**Lepidoptera, Coleoptera**	**الأرز**	**Lectin**	**Rice lectin**
				Otbers
البطاطس	**Homoptera, Lepidoptera**	**الفاصوليا**	**Chitinase**	**BCH**
الصمغ والتبغ والطماطم	**Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera**	**التبغ**	**Anionic peroxidase**	**Peroxidase**
لفت الزيت			**Chitinase**	**Chitinase**
التبغ	**Homoptera**	***Catharanthus roseus***	**Tryptophan**	**TDC**
			decarboxylase	

مصادر أخرى لجينات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات

من بين المصادر الأخرى لجينات التحول الوراثى التى استخدمت فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات بخلاف تلك التى أسلفنا بيانها (النباتات الراقيـة)، وتلك التى نختم بها هذا الفصل (البكتيريا Bacillus thuringiensis)، ما يلى:

1 – البروتين (الإنزيم) cholestrol oxidase:

أظهر البروتين cholestrol oxidase المتحصل عليه من راشح مزارع الـ Streptomyces سمية عالية ليرقات الـ boll weevil، ولقد أمكن نقل الجين المسئول عن إنتاج هذا الإنزيم إلى التبغ.

2 – الجين ipt:

إن الجين ipt هو المسئول عن إنتاج الإنزيم isopentenyl transferase – الذى يوجد فى البكتيريا Agrobacterium tumefacines، والذى يعد إنزيمًا رئيسيًّا فى مسار تمثيل السيتوكينين. ولقد أدى تحويل التبغ والطماطم وراثيًّا بهذا الجين إلى ضعف تغذية يرقات الـ tobacco hornworm على أوراقهما، وكذلك ضعف معيشة وبقاء من الخوخ الأخضر Myzus persicae عليهما.

3 – جينات من الثدييات

من بين بروتينات الثدييات التى أظهرت نشاطًا كبيرًا فى مقاومة الحشرات كلاً من: الـ bovine pancreatic trypsin inhibitor، و α-antitripsin، و spleen inhibitor، ولقد أمكن نقل الجينات التى تتحكم فى إنتاج تلك البروتينات إلى عدد من النباتات، إلاّ أن النتائج الأولية (مع فراشة درنات البطاطس على البطاطس) لم تكن مشجعة.

4 – جينات من الحشرات

أدت جينات مثبطات البروتينيز المتحصل عليها من Manduca sexta مثل الـ anti-chemotrypsin، والـ anti-elastrase، التى عبر عنها فى القطن، وكذلك أدى إنزيم الـ chitinase الذى عبر عنه فى التبغ إلى خفض تكاثر كلا من الذبابة البيضاء Bemisia tabaci، و Heliothis virescens، على التوالى (عن Chawla 2000).

البروتينات البللورية للبكتيريا باسيلّس ثور نجينسس

لقد عرف منذ نحو 60 عامًا أن البروتينات البلّورية crystal proteins التى تنتجها البكتيريا Bacillus thuringiensis لها تأثيرات سامة على الحشرات، واستخدمت التحضيرات التجارية لتلك البكتيريا – بالفعل – فى مكافحة أكثر من 50 نوعًا من حرشفيات الأجنحة. هذا .. إلاّ أن الاهتمام الحقيقى بها لم يبدأ إلاّ فى عام 1985 بعد عزل الجين الخاص بأحد تلك البروتينات، ثم نقله إلى الطماطم بواسطة Fischhoff وآخرون فى عام 1987؛ بهدف مقاومة يرقات حرشفيات الأجنحة فى ذلك المحصول (عن King 1990).

وقد أعقب ذلك اكتشاف هذا البروتين ذاته فى عديد من سلالات هذه البكتيريا. وتدريجيًّا .. بدا واضحًا أن السلالة البكتيرية الواحدة يمكنها إنتاج عددًا من تلك البروتينات. كذلك أمكن التوصل إلى عدد من سلالات البكتيريا B. thuringiensis التى تفيد – مجتمعة – فى مكافحة مدى واسعًا من حرشفيات الأجنحة، كما أمكن التوصل إلى عدد قليل من السلالات ذات النشاط المضاد لغمديات الأجنحة (عن Hilder 1990).

وباختصار .. فإن البكتيريا B. thuringiensis تقوم بتمثيل بروتين متبلور قاتل للحشرات. يذوب هذا البروتين فى الظروف القلوية للمعى الوسطى midgut ليرقات حرشفية الأجنحة بعد حصولها عليه ضمن غذائها، ثم يهضم هذا البروتين بواسطة إنزيمات الـ proteases بالمعى الأوسط؛ لينتج منه بولى بيبتيد polypeptide تكون مقاومة لمزيد من الهضم بفعل الـ peptidase، وتكون فى الوقت ذاته سامة للحشرة (عن Chahal & Gosal 2002).

أنواع السموم وطبيعة سميتها للحشرات

تعد **Bacillus thuringiensis** من بكتيريا التربة القادرة على تكوين الجراثيم، وهى تنتج نوعين – على الأقل – من البروتينات السامة للحشرات والنيماتودا، كما يلى:

1 – سموم خارجية exotoxins:

تنتج هذه السموم بواسطة الجين vip3a فى مراحل النمو غير الجنسى، وهى تنطلق للتربة. وتعد الـ β-exotoxins سامة للنيماتودا.

2 – سموم داخلية δ-endotoxins:

تنتج هذه السموم بواسطة مجموعة جينات الـ cry، خلال مرحلة التجرثم البكتيرى، حيث تكوّن البكتيريا بلّورات بروتينية تبقى داخل الجرثومة. وعندما تحصل الحشرة على هذا السم ضمن غذائها فإنه يرتبط بمواقع خاصة فى الخلايا المبطنة للمعى. وقد أمكن التعرف على جينين من الـ cry2 يتخصص السم الذى يفرزه أحدهما على حرشفية الأجنحة Lepidoptera والآخر على ثنائية الأجنحة (الذباب) Diptera. ونتيجة لعملية ارتباط السم تحدث تغيرات تركيبية فى السم، يتبعه تكون ثقب فى الخلية المبطنة التى حدث معها الارتباط، تؤدى إلى حدوث تحلل أسموزى قاتل.

ولقد وجد أن السموم الداخلية كانت سامة – كذلك – لبعض الأنواع النيماتودية؛ فوجد – مثلاً – أن السم CryB كان سامًّا للنيماتودا Caenorhabditis elegans (عن Atkinson وآخرين 2003).

وكما أسلفنا .. فإن سُم الـ Bt لا يكون فعّالاً إلاّ إذا التصق مع الجدر المعوية للحشرة، فإن لم يحدث هذا الالتصاق فإن السم لا يكون مؤثرًا. وليست لجميع سلالات B. thuringiensis تلك العلاقة مع جميع الأنواع الحشرية؛ فبعضها يتخصص – فقط – على حشرات رتبة حرشفية الأجنحة lepidoptera، بينما توجد سلالات متخصصة على حشرات غمدية الأجنحة coleoptera، أو ثنائية الأجنحة diptera، أو حتى على النيماتودا.

على الرغم من أن قتل وتجفيف البكتيريا B. thuringiensis ذاتها، ورش المسحوق الناتج عن ذلك على النباتات يؤدى إلى قتل الحشرات الحساسة للسلالة المستعملة من البكتيريا، إلا أن سُم الـ Bt الذى ينطلق من البكتيريا سريعًا ما يتحلل ويختفى من النباتات ويصبح عديم المفعول فى المكافحة.

ولكن وجد عند نقل الجين المسئول عن إنتاج سُم الـ Bt من B. thuringiensis إلى البكتيريا Pseudomonas fluorescens أن السم يبقى داخل البكتيريا بعد قتلها وتجفيفها؛ وبذلك يبقى ثابتًا بعد رش البكتيريا على النباتات.

ونظرًا لأن البكتيريا تُستعمل فى المكافحة بعد قتلها؛ لذا .. فإنه لا يوجد أى ضرر من استعمالها، ولكن الضرر يمكن أن يحدث إذا ما رشت البكتيريا الحية لأن تلك البكتيريا تتواجد بصورة طبيعية على الأسطح الورقية؛ فإذا ما انتقل الجين الـ Bt من السلالة المرشوشة المحولة وراثيًّا إلى السلالات الطبيعية لكان هناك احتمال الخطر من استمرار تناول الإنسان لها على الدوام فى طعامه.

وتجدر الإشارة إلى أن تلك الطريقة فى المقاومة لا تكون فعالة ضد الحشرات التى تعيش على الأجزاء تحت الأرضية من النبات كالجذور والدرنات، والتى لا يصلها محلول الرش (عن Chrispeels & Sadava 2003).

وحاليًّا .. يعد السُم الحشرى الـ **βt δ-endotoxin** – من البكتيريا **B. thuringiensis** – أهم وسائل الهندسة الوراثية لمكافحة الحشرات، وقد وصلت مبيعات بذور الذرة والقطن وتقاوى البطاطس المهندسة وراثيًّا بجين الـ **Bt** أرقامًا قياسية، كما حولت وراثيًّا بالجين ذاته محاصيل: البرسيم الحجازى، والتفاح، والباذنجان، والحور، والأرز، والتبغ، والطماطم، والجوز.

ومن أهم مميزات الـ **βt δ-endotoxin** عدم استمرار تواجده فى البيئة لفترة طويلة، وفاعليته ضد مجموعة محددة من الآفات الحشرية، وعدم سميته لمعظم النباتات والحيوانات، وكذلك عدم سميته للإنسان. تُحدث هذه السموم ثقوبًا وتحللاً بالخلايا فى الأمعاء الوسطى لليرقات، عند تركيزات تقدر بالجزء فى البليون.

وحديثًا .. أصبحت المقاومة للحشرات بهذه الطريقة محل تساؤلات بعد أن اكتشفت حالات المقاومة للـ **βt δ-endotoxin** فى بعض الحشرات (عن **Bent & Yu 1999**).

ولقد وجد الباحثون سلالات جديدة من **B. thuringiensis** أقوى تأثيرًا فى سميتها، وأخرى مؤثرة على يرقات حشرات أخرى غير حرشفيات الأجنحة. كذلك يحاول الباحـثون هندسـة جينات منتجة للبروتين البلّورى تكون أقـوى سـمية أو أوســع تأثيرًا.

إن بروتينات الـ **Bt** التى يُعَبَّر عنها حاليًّا فى المحاصيل الزراعية المحولة وراثيًّا هى من الطرازين **CryI**، و **CryIII** من الـ **d-endotoxins**، وهى التى تعرف بفاعليتها فى مقاومة عديد من الآفات الحشرية من كل من رتبتى حرشفية الأجنحة وغمدية الأجنحة. وقد أفاد استمرار غربلة وتقييم سلالات الـ **BT** فى اكتشاف **d-endotoxins** ذات صفات مفيدة ونشطة ضد حشرات أخرى إضافية. وعلى سبيل المثال .. وجدت **d-endotoxins** تنتمى إلى طراز **Cry II** ذات نشاط ضد بعض الآفات الرئيسية من حرشفية الأجنحة.

الإنجازات على المستوى التجارى

من بين الشركات الأمريكية التى أجرت اختبارات حقلية لنباتات محولة وراثيًا بالجين Bt، أو اعتُمدت اختباراتها الحقلية بواسطة وزارة الزراعة الأمريكية، ما يلى (Chrispeels & Sodava 2003).

الشركة	المحصول
Monsanto	البطاطس – القطن – الطماطم – الذرة
Calgene	القطن – التبغ – البطاطس
CIBA-GEIGY	التبغ – الذرة
Agrigentics	لفت الزيت (الكانولا)
Campbell Institute R & T	الطماطم
Rohm & Haas	التبغ
Roger NK Seed	الطماطم
Frito-Lay	البطاطس
Delkab	الذرة
Northrup King	الذرة
Dow Gardens	الغُبيراء Serviceberry

ومن بين الأصناف الجديدة التجارية التى أدخلت فى الزراعة وتحمل الجين Bt الأصناف: Bollgard، و Maximizer، و Yield Gard من القطن، و New Leaf من البطاطس (عن 2002 Chahal & Gosal).

ويعطى جدول (6-13) قائمة بأصناف بعض المحاصيل الزراعية الهامة التى أنتجتها بعض شركات التكنولوجيا الحيوية لمقاومة أنواع حشرية متنوعة.

جدول (6-13): الأصناف التجارية التى أنتجتها شركات التكنولوجيا الحيوية من بعض المحاصيل الاقتصادية الهامة (عن Slater وآخرين 2003)

الشركة	الصنف	بروتين الـ Bt	المحصول	الحشرات المستهدفة
Monsanto	New-Leaf	Cry3A	البطاطس	Colorado beetle
Monsanto	Bollgard	Cry1Ac	القطن	Tobacco budworm, cotton bollworm, pink bollworm
Monsanto	YieldGard	Cry1Ab	الذرة	European corn borer
Novartis	YieldGard			
	Knockout			

Mycogen	NaturGard			
DeKalb	Br-Xtra	Cry1Ac	الذرة	European corn borer
Aventis	StarLink	Cry9C	الذرة	European corn borer
Mycogen	Herculex 1	Cry1F	الذرة	European corn borer
Pioneer				
Monsanto		Cry3Bb	الذرة	Corn rootworm larvae

كسر مقاومة الجين Cry

عند زراعة الأصناف المعدلة وراثيًا المحتوية على الجين Cry على نطاق واسع، فإن الضغط الانتخابى على الحشرات لتطوير سلالات جديدة مقاومة للسم الذى ينتجه هذا الجين يكون قويًا؛ الأمر الذى يؤدى إلى ظهور السلالات المقاومة، ثم انتشارها مع استمرار زراعة الأصناف المعدلة وراثيًا (عن Bergelson وآخرين 1999).

وتعرف عدة حالات كسرت فيها الحشرات المقاومـة الحشرية فى النباتات المحولة وراثيًا، وخاصة فى تلك التى حصلت على جين المقاومة الحشرية من **Bacillus thuringiensis**، ولعل أبرز مثال على ذلك المقاومة التى تطورت فى الفراشة ذات الظهر الماسى **Plutella xylostella** ضد سموم الـ **Cry1A** فى كل من الفيلبين، وهاواى، وفلوريدا، وكذلك ضد **Cry1F** فى هاواى. ولقد بدا واضحًا أن مقاومة تلك الحشرة لهذه السموم يتحكم فيها جين واحد أو عدد قليل من الجينات. وجدير بالذكر أن هذه الحشرة – على وجه الخصوص – قد طورت مقاومة ضد معظم المبيدات الحشرية فى عديد من دول العالم (عن **Roush 1997**).

ولقد طورت استراتيجيات للتعامل مع مشكلة مقاومة الحشرات للسُم البكتيرى، وجميعها تعتمد على بقاء الآليل الحشرى الخاص بمقاومة السُم البكتيرى منخفضًا، حيث يتسنى للأفراد الحساسة – التى تحتوى على الآليل الحشرى الخاص بالحساسية للسُم البكتيرى – أن تكتسح الأفراد المقاومة.

ومن بين هذه الاستراتيجيات، ما يلى:

1 – اتباع دورة زراعية تتبادل فيها المحاصيل المعدلة وراثيًا بالجين **Bt** مع المحاصيل غير المعدلة وراثيًا، أو أن تتنوع فى الأصناف المزروعة فيها سموم الـ **Bt**.

2 – استعمال أصناف محولة وراثيًا بأكثر من واحد من سموم الـ **Bt**، مع اختلافها فى طبيعة فعلها.

3 – توفير ملجأ لتكاثر الحشرة العادية غير المقاومة لسموم الـ **Bt**، إما بالتعبير عن جينات الـ **Bt** فى أنسجة معينة من النباتات المحولة وراثيًا ذاتها، أو بزراعة أصناف محولة وراثيًا وأخرى غير محولة فى الحقل ذاته، أو فى حقول متجاورة. يؤدى ذلك إلى إبطاء عملية تطور وظهور سلالات حشرية جديدة مقاومة.

4 – التعبير القوى جدًا لجينات الـ **Bt** فى النباتات المعدلة وراثيًا؛ مما يزيد من صعوبة ظهور السلالات المقاومة.

5 – الحد من حجم عشيرة الحشرة – بهدف الحد من التباينات الوراثية التى قد تظهر فيها والتى قد تتضمن المقاومة – وذلك بالجمع بين زراعة الأصناف المقاومة ووسائل المكافحة الأخرى، مثل استعمال الأعداء الطبيعية (عن Mandaokar وآخرين 1999، و Bent & Yu 1999).

وقد قارن Roush (1994) تأثير مقاومة الحشرات بتحويلها وراثيًا بالجين Bt مع المقاومة بالرش بالتحضيرات التجارية من البكتيريا Bacillus thuringiensis، وذلك على ضوء ما ابداه بعض الحشريين من أن فرصة ظهور سلالات حشرية مقاومة تكون أقل عند الرش بالبكتيريا عما يكون عليه الحال عند زراعة النباتات المحولة وراثيًا. يذكر الباحث – بداية – أن التحضيرات التجارية من البكتيريا لا تخلط – غالبًا – بالمبيدات الحشرية الكيميائية، وليس من المحتمل أن تكون بديلاً عنها. وبالمقارنة .. فإن استعمال النباتات المحولة وراثيًا فى الزراعة يمكن أن يحل كلية محل الرش بالمبيدات الكيميائية؛ مما يجعل لاستعمالها قيمة كبيرة فى حماية البيئة. كذلك أظهرت الدراسات المختبرية على كل من الفراشة ذات الظهر الماسى Plutella xylostella وفراشة الدقيق الهندية Plodia interpunctella أن النباتات التى تحمل جين Bt واحد تكون أكثر كفاءة فى تأخير ظهور المقاومة الحشرية عن الرش بالبكتيريا. كما وجد أيضًا أن سلالات خنفساء كلورادو Leptinotarsa decemlineata التى طورت معمليًا لمقاومة الرش بالبكتيريا لم تكن قادرة على إصابة النباتات المحـولة وراثيًا؛ مما يعنى أن طبيعة المقاومة الحشرية تختلف بين حالتى الرش بالبكتيريا واستعمال النباتات المحولة وراثيًا. وأخيرًا .. فإن استعمال نباتات محولة وراثيًا بجينين من جينات الـ Bt تزيد – كثيرًا – من احتمالات تطوير حالات المقاومة الحشرية.

الفصل الرابع عشر

طبيعة المقاومة للحشرات

التقسيم العام لأنواع المقاومة تبعًا لطبيعتها

قسم Painter (1951) طبيعة المقاومة للحشرات إلى ثلاثة طرز رئيسية، وهى كما يلى:

1 – عدم تفضيل الحشرة التغذية على النبات Non-Preference .. وهى الحالات التى تكون فيها النباتات غير جذابة، أو غير مناسبة لأن تستعمرها الحشرة، أو تضع بيضها عليها.

هذا .. إلاّ أن المصطلح الذى يشيع استعماله حاليا كبديل لمصطلح non- preference هو الـ Antixenosis، الذى يُعنى به مجموعة الصفات النباتية التى تمنع الحشرة من الاقتراب من النبات أو الهبوط أو الاستقرار أو التغذية أو وضع البيض عليه؛ فهى ظاهرة تؤثر على سلوك الحشرة.

ومن أمثلة حالات عدم التفضيل ما يلى:

أ - تكون حالة عدم التفضيل فى أصناف الراسبرى المقاوم لمن الراسبرى Amphorophora idaei قوية جدًّا لدرجة أن المن يتحرك بسرعة كبيرة على النباتات المقاومة.

ب - فى البنجر المقاوم للمن .. لا تتحرك الحشرة على النبات، ولكنها تكون ضَجِرة ومتململة restless، وتكون تغذيتها لفترات قصيرة مقارنة بفترات تغذيتها على النباتات القابلة للإصابة؛ ويترتب على ذلك ضعف تكاثر المن على النباتات المقاومة مقارنة بتكاثره على النباتات القابلة للإصابة.

وتوصف المقاومة فى المثالين السابقين بأنها مقاومة لاستقرار المن على النبات.

2 – التضادية الحيوية Antibiosis .. وهى مجموعة الصفات النباتية التى تؤثر فى تكاثر الحشرة؛ فهى تؤثر فى فترة حياتها، وفى معدل وضعها للبيض، وفى فترة الجيل، ومعدل موت أفرادها قبل البلوغ؛ وهى بذلك تؤثر فى فسيولوجى الحشرة.

وتأخذ التضادية الحيوية فى النباتات عدة أشكال، منها ما يرجع إلى أسباب مورفولوجية، ومنها ما يرجع إلى أسباب كيميائية.

وتوجد معظم العوامل المسئولة عن المقاومة فى العائل قبل حدوث الإصابة بالآفة، ونادرًا ما تنشأ المقاومة نتيجة لحدوث تفاعل بين العائل والآفة، مثلما يحدث فى عديد من حالات المقاومة للأمراض.

ومن حالات التفاعل القليلة المعروفة التحلل الموضعى الذى تحدثه بعض الحشرات الثاقبة الماصة، والذى قد يؤدى إلى منع – أو إلى خفض – استمرار تغذية الآفة. ويعد ذلك من حالات فرط الحساسية، وهى توجد فى أصناف التفاح المقاومة للمن الصوفى **Eriosoma lanigerum**، وكذلك الأصناف المقاومة لمن التفاح الوردى **Dysahis plantaginea**.

ويكون من الصعب أحيانًا التفريق بين حالتى عدم التفضيل والتضادية الحيوية؛ لأن نفس آلية المقاومة غالبًا ما تؤثر فى كل من درجة تفضيل الحشرة للتغذية على عائل معين وفى نموها وتكاثرها بعد تغذيتها عليه.

3 – القدرة على التحمل **Tolerance** .. وهى مجموعة الصفات النباتية التى تسمح للنبات بتحمل درجة معينة من الإصابة الحشرية دون أن يتأثر فيه المحصول أو صفات الجودة.

ويضيف **Russell** (1978) إلى الطرز الثلاثة السابقة طرازًا رابعًا هو تجنب الإصابة **Pest Avoidancce**، وهى الحالة التى تفلت فيها النباتات من الإصابة بالآفة برغم قابليتها للإصابة بها، ويضرب على ذلك مثالا بأصناف التفاح التى لا تصاب بعديد من الأنواع الحشرية لأن براعمها لا تتفتح إلا بعد الفترة التى يكون فيها تعداد الحشرة قد بلغ أقصاه. هذا .. إلا أن **Painter** (1951) وضع هذه الحالة ضمن ما أسماه بالمقاومة الظاهرية **Apparent Resistance**، أو المقاومة الكاذبة **Pseudoresistance**، التى يعتمد ظهورها على تواجد ظروف بيئية معينة تكتسب النباتات بسببها المقاومة على الرغم من قابليتها المؤكدة للإصابة. ولتلك النوعية من المقاومة أهميتها فى عمليات المكافحة المتكاملة.

وتعرف ثلاث حالات من المقاومة الظاهرية، كما يلى:

1 – تجنب الإصابة Host Evasion، أو Host Avoidance .. وهى ظاهرة الإفلات من الإصابة لعدم وجود الحشرة بأعداد كافية عندما يكون النبات فى مرحلة النمو المناسبة للإصابة، ويرجع ذلك إلى أسباب وراثية خاصة بالصنف ذاته.

2 – الإفلات من الإصابة Escape .. وهو الأمر الذى يحدث عند الزراعة فى المواعيد التى لا تتواجد فيها الحشرة بأعداد كافية، وهى ليست صفة وراثية.

3 – المقاومة المستحثة Induced Resistance .. وهى الحالات التى يكتسب فيها النبات مقاومة للحشرات نتيجة تعرضة لظروف بيئية خاصة.

الخصائص النباتية المؤثرة فى المقاومة

يمكن أن تتضمن طبيعة المقاومة للحشرات أيًّا من الخصائص التالية:

الخصائص المورفولوجية

من بين أهم الخصائص المورفولوجية التى تلعب دورًا فى مقاومة النباتات للحشرات، ما يلى:

1 – وجود الشعيرات الكثيفة على سطح الأوراق hairness:

ترتبط صفة الكثافة العالية للشعيرات على سطح الأوراق بالمقاومة لعديد من الآفات الحشرية، مثل مقاومة: الحبوب النجيلية لخنفساء أوراق الحبوب، والقطن للجاسيد، واللفت لمنِّ اللفت.

2 - لون النبات:

يمكن أن يُسهم لون النبات فى حالة عدم التفضيل nonpreference أحيانًا؛ فمثلاً .. يعد الكرنب الأحمر، وكرنب بروكسل الأحمر الأوراق أقل تفضيلاً من الأصناف الخضراء اللون فى جذب الفراشات وغيرها من حرشفيات الأجنحة لوضع البيض.

3 - سمك الأنسجة النباتية وقوتها:

تعد الأنسجة السميكة القوية الصلبة بمثابة عائق ميكانيكى أمام تغذية الحشرات ووضع بيضها؛ مما يؤدى إلى مقاومة تلك الأنسجة عن طريق كل من خاصتى عدم التفضيل والتضادية الحيوية antibiosis. ومن الأمثلة على ذلك حالة النصل السميك لأوراق القطن التى تسهم فى مقاومة الجاسيد، وساق القمح المصمت الذى يُسهم فى المقاومة لذبابة الساق المنشارية stem sawfly، وجلد لوزة القطن السميك والصلب الذى يجعل من الصعب على يرقات دودة اللوز اختراقها.

4 – صفات أخرى:

من بين الصفات المورفولوجية الأخرى التى قد تُسهم فى المقاومة للحشرات (وجميع الأمثلة التالية من القطن) ما يلى: الأوراق الجلدية ذات الفصوص الضيقة التى تكون أكثر مقاومة للجاسيد، وأعناق الأوراق وأعناق اللوزات الطويلة التى تزيد من صعوبة حركة يرقات دودة اللوز، والأوراق الخالية من الغدد الرحيقية التى تقلل من زيارة الحشرات لها.

الخصائص الفسيولوجية

من بين الخصائص الفسيولوجية الهامة التى تسهم فى المقاومة للحشرات فى النباتات، ما يلى:

1 - إفراز الشعيرات الورقية لبعض أنواع الجنس **Solanum** لمواد صمغية يلتصق بها المن وخنفساء كلورادو؛ مما يجعلها غير قادرة على التغذية والتكاثر.

2 - إفراز الشعيرات الغدية الثانوية لأوراق **Medicago diciformis** لمواد تعمل كمضاد حيوى على سوسة البرسيم الحجازى.

3 – ارتباط المقاومة للجاسيد بالضغط الإسموزى العالى للعصير الخلوى.

الخصائص الكيميائية الحيوية

تعد الخصائص الكيميائية الحيوية أكثر أهمية من كل من الخصائص المورفولوجية والفسيولوجية فى مقاومة النباتات للحشرات، ومن الأمثلة على ذلك ما يلى:

1 – العلاقة بين التركيز العالى للجوسيبول **gossypol** – وهو مركب فينولى – والمقاومة لعديد من الحشرات فى القطن.

2 – تَسَبُّب المحتوى العالى للسيليكا فى النموات الخضرية للأرز فى مقاومته لحفار الساق؛ حيث تؤدى زيادة السيليكا إلى سرعة تآكل أجزاء الفم بفكى الحشرة.

3 – تحتوى أصناف الذرة المقاومة لحفار ساق الذرة الأوروبى على تركيز عالٍ من المركب 2,4-dihydroxy, 7-methyl 2H-1, 4-benzoxoxazine,3(4H)-one (اختصارًا: DIMBO) الذى لا تستسيغه الحشرة إلى حد بعيد.

4 – احتواء أصناف القمح والشعير المقاومة للخنافس الخضراء على تركيز عالٍ من الـ benzyl alcohol الذى لا تستسيغه الحشرة كذلك.

5 – ارتفاع محتوى أوراق وسيقان البرسيم الحجازى من السابونين؛ الأمر الذى يرتبط إيجابيًّا بمقاومة النبات لكل من البسلة ومنّ البرسيم الحجازى المتبقع.

6 – ينتج النوع Lycopersicon hirsutum مركبًا قابلاً للذوبان فى الكحول الإثيلى يكون شديد السمية لكل من دودة ثمار الطماطم وخنفساء التبغ البرغوثية، وهذا المركب هو 2- tridecanone (اختصارا: 2-TD).

7 – يؤدى غياب بعض المركبات التى تعمل كمحفزات لتغذية الحشرات إلى مقاومة النباتات لتلك الحشرات بخاصية عدم التفضيل، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

أ – انخفاض تركيز الأسباراجين asparagine من بعض أصناف الأرز؛ مما يجعلها أكثر مقاومة لنطاطات الأوراق البنية.

ب – انخفاض تركيز السينجرين sinigrin فى بعض أصناف الكرنب؛ مما يجعلها أكثر مقاومة لمن الكرنب (عن Singh 1993).

ونقوم فى هذا الفصل بإلقاء الضوء على تلك الخصائص والدور الذى تلعبه فى المقاومة بمزيد من التفصيل.

دور الخصائص النباتية المورفولوجية فى المقاومة

الشعيرات السطحية

إن الشعيرات السطحية trichomes عبارة عن امتدادات من خلايا البشرة بالأوراق، والفروع، والجذور تكون وحيدة الخلية أو متعددة الخلايا، وتعرف حالة الغطاء الكلى من تلك الشعيرات باسم الزغبية pubescence.

تتفاوت الأنواع الحشرية فى استجابتها للشعيرات النباتية السطحية سواء أكانت تلك الشعيرات غدية glandular (جدول 14-1)، أم غيرغدية non-glandular (جدول 14–2)، فهى تحمى النباتات من بعض الحشرات بتعارضها مع قدرة الحشرات على العثور على موقع مناسب لوضع بيضها، أو تثبيت ذاتها عليه، أو تغذيتها، أو استعمارها له، كما تؤثر سلبيًّا فى قدرة البيض على الفقس وعلى تطور اليرقات. وعلى الرغم من ذلك فإن الطرز الملساء تكون أحيانًا أكثر مقاومة لبعض الحشرات.

وتعتمد خاصية التأثير الفيزيائى للشعيرات السطحية على كثافتها، واستقامتها، وطولها، وشكلها.

وفى بعض الأحيان تتصل الشعيرات السطحية بغدد يُفرز منها مركبات أيض ثانوية، وقد ترجع خاصية المقاومة إلى محتوى تلك الإفرازات من المركبات ذات التأثير على الكائنات الأخرى allelochemicls، مثل الألكالويدات alkaloids والتربينات terpenes، والتى يمكنها قتل الحشرات بالملامسة أو قد تكون طاردة لها. وفى بعض النباتات تقوم الإفرازات اللزجة بلصق أجزاء فم الحشرات وشل حركة الصغيرة منها، بينما تقلل من تغذية الحشرات الأكبر حجمًا ومن فرصة عثورها على مكان مناسب لوضع بيضها (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

جدول (14-1): أمثلة لحالات عدم تفضيل الحشرة، أو الأكاروس للتغذية non-preference؛ بسبب كثرة الشعيرات غير الغدية non-glandular hairs على أوراق وسيقان النبات.

المحصول	الآفة		تأثيرات الشعيرات فى الآفة
القطن	(نطاط الأوراق)	Empoasca fascialis	منع وضع البيض والتغذية
	(العنكبوت الأحمر العادى)	Tetranychus urticae	تقليل استقرار وتغذية الأكاروس
القمح	(خنفساء أوراق الحبوب)	Oulema melanopus	تقليل وضع البيض وزيادة نسبة موت البيض واليرقات
فول الصويا	(نطلط أوراق البطاطس)	Empoasca fabae	زيادة نسبة موت البيض واليرقات
الفاصوليا	(نطاط أوراق البطاطس)	Empoasca fabae	إمساك الشعيرات المعقوفة بالحشرة.
	(من اللوبيا)	Aphis craccivora	إمساك الشعيرات المعقوفة بالحشرة.
البرسيم الحجازى	(نطاط أوراق البطاطس)	Empoasca fabae	منع وضع البيض والتغذية.

جدول (2-14): أمثلة لحالات عدم تفضيل الحشرة، أو الأكاروس للتغذية non-preference؛ بسبب كثرة الشعيرات الغدية glandular hairs على أوراق وسيقان النبات.

النوع النباتى	الآفة		تأثيرات الشعيرات فى الآفة
Solanum berthaultii	(من الخوخ الأخضر)	Myzus persicae	الإمساك بالآفة وشل حركتها
S. polyadenium	(من البطاطس)	Macrosiphum euphorbiae	الإمساك بالآفة وشل حركتها
S. tarijense	(خنفساء كلورادو)	Leptinotarsa decemlineata	الإمساك بالآفة وشل حركتها
	(العنكبوت الأحمر العادى)	Tetranychus urticae	
S. berthaultii	(نطاط أوراق البطاطس)	Empoasca fabae	الإمساك بالحشرة ومنع تغذيتها وشل حركتها
S. polyadenium	(من البطاطس)	Macrosiphum euphorbiae	الإمساك بالحشرة
Lycopersicon spp.	(من البطاطس)	Macrosiphum euphorbiae	الإمساك بالحشرة
	(العنكبوت الأحمر العادى)	Tetranychus urticae	الإمساك بالأكاروس مع تأثير

		T. cinnabarinus	طارد وتسمم بالملامسة
	(ذبابة البيوت المحمية البيضاء)		
Nicotiana spp.		Trialeurodes vaporariorum	الإمساك بالحشرة
	(من الخوخ الأخضر)	Myzus persicae	الإمساك بالحشرة
	(Tobacco hornworm)	Manduca sexta	الإمساك بالحشرة
	(العنكبوت الأحمر العادى)	Tetranychus urticae	الإمساك بالأكاروس وإحداث تسمم بالملامسة.

ونستعرض فيما يلى نتائج بعض الدراسات التى أجريت على علاقة الشعيرات بنوعيها – الغدية وغير الغدية – بمقاومة الآفات.

أولا: الشعيرات غير الغدية

1 - يتحدد مدى تأثير الشعيرات على نطاطات الأوراق بطريقة تغذيتها. فالأنواع التى تتغذى من اللحاء أو الخشب يتعين عليها أن تصل بالقليم stylet إلى عمق كبير فى النسيج النباتى؛ وبذا .. فإن مجرد وجود شعيرات قصيرة قد يعيق تغذيتها. وبالمقارنة .. فإن الأنواع التى تتغذى على طبقة النسيج الوسطى mesophyll لا تتأثر تغذيتها بهذه الشعيرات.

2 - يمكن أن يؤثر الزغب فى عملية هضم الغذاء فى اليرقات والحشرات الكاملة؛ ففى خنفساء أوراق الحبوب Oulema melanopa التى تصيب القمح يتعين على اليرقة أن تأكل الشعيرات لكى تصل إلى طبقة البشرة، ويعنى ذلك ضرورة التهام اليرقة لكمية كبيرة من السيليلوز واللجنين،

وهما المكونان الرئيسيان للشعيرات؛ ويؤدى ذلك إلى موت اليرقات الصغيرة؛ نتيجة لعدم توازن الغذاء الذى يتشكل أساسًا – حينئذٍ - من مواد ليفية. كما وجد أن وزن اليرقات يتناسب عكسيا مع كثافة الشعيرات. هذا بالإضافة إلى أن اليرقات التى تتغذى على أصناف القمح ذات الشعيرات الكثيفة سرعان ما يمتلئ جهازها الهضمى بالشعيرات غير المهضومة التى يخترق بعضها جدر القناة الهضمية.

وقد حُصل على نتائج مشابهة لذلك فى الفول؛ حيث وجدت علاقة مماثلة بين الزغب ومقاومة الفول لخنفساء الفاصوليا المكسيكية **Epilachna varivestis**.

3 - يؤثر الزغب كذلك فى وضع البيض، ولكن طبيعة التأثير تختلف حسب الحشرة والعائل. فمثلا .. تكون سلالات القطن ذات الأوراق الزغبية أكثر صلاحية لوضع البيض عن السلالات ذات الأوراق الملساء بالنسبة لحشرتى **Heliothis zea**، و **H. virescens**، بينما نجد فى القمح أن الزغب يقلل بشدة من قدرة خنفساء أوراق الحبوب على وضع بيضها على الأوراق.

4 - يختلف تأثير الزغب - فى المحصول الواحد - على مختلف الحشرات التى تصيبه. فمثلا .. نجد كما أسلفنا أن سلالات القطن ذات الأوراق الملساء أكثر مقاومة للـ **Heliothis spp.**، بينما نجد أن نفس سلالات القطن - وبسبب نفس الخاصية – نكون أكثر قابلية للإصابة بكل من دودة ورق القطن **Spodoptera littoralis**، ودودة اللوز **Anthonomus grandis**. إلا أن المقاومة لدودة اللوز التى يسببها وجود الزغب لا تكون فعالة عند تواجد الحشرة بكثافة عالية.

كذلك يتواجد نطاط أوراق القطن **Pseudotomoscelis seriatus** على أصناف القطن الزغبية الأوراق بدرجة أكبر منه على الأصناف الملساء الأوراق، برغم أن الأصناف الملساء تكون أكثر قدرة على تحمل الإصابة.

5 - قد تشل الشعيرات حركة بعض الحشرات التى تقف عليها، فمثلا .. توجد فى بعض أصناف الفاصوليا شعيرات معقوفة **hooked** تشل تمامًا حركة بعض الحشرات ذات الأجسام الطرية مثل المن.

ثانيًا: الشعيرات الغدية

أجريت معظم الدراسات عن تأثير الشعيرات الغدية على مقاومة الحشرات فى العائلة الباذنجية. ويتباين تأثير إفرازات الغدد المتصلة بالشعيرات حسب نوع هذه الإفرازات كما يلى:

1 - تحتوى البطاطس البرية **Solanum polyadenium**، و **S. berthaultii**، و **S. tariyense** على شعيرات غدية كثيفة تعرف باسم طراز A (وهى ذاتها طراز VI فى الجنس Lycopersicon)، ويؤدى تمزق الجدر الخلوية لهذه الشعيرات بأى من نوعى المن: **Myzus persicae**، أو **Macrosiphnm euphorbiae** إلى إفراز الغدد المتصلة بها لسائل رائق قابل للذوبان فى الماء، يتحول بسرعة لدى تعرضه لأكسجين الهواء الجوى إلى مادة سوداء غير قابلة للذوبان - بسبب احتواء تلك الإفرازات على تركيز عالٍ من الإنزيم **polyphenol oxidase** - ثم تتصلب تلك المادة حول أرجل المنّ؛ مما يؤدى إلى شل حركة الحشرة، ثم موتها.

أما طراز B من الشعيرات الغدية للنوع **S. berthaultii** - وهو ذاته طراز IV فى الجنس Lycopersicon - فإن شعيراته تتميز بطولها الملحوظ عن طراز A، وبإفرازها إسترات الجلوكوز والسكروز لأحماض دهنية تتكون من 4-12 ذرة كربون، وهى تؤدى إلى شلِّ حركة الآفات الصغيرة مثل العنكبوت الأحمر والمن، كما تقلل من انتقال الفيروسات عن طريق المن، وتمنع النمو الفطرى والبكتيرى.

كذلك نجد أن الشعيرات الغدية ذات الأربعة فصوص **four-lobed** التى توجد بأوراق وسيقان النوع **S. polyadenium** تفرز مادة لزجة تشل حركة يرقات حنفساء كولورادو **Leptinotarsa decemlineata**.

2 – تفرز بعض شعيرات عديد من أنواع الجنس Nicotiana مواد ذات تأثير سام على المن، وتتشابه أعراض التسمم مع تلك التى تحدث من جراء التسمم بالنيكوتين، وهى: شلل الأرجل، وفقدان التوازن، والموت. وقد وجد أن بعض هذه الإفرازات تحتوى على نيكوتين، و anabasine، و nornicotine.

كذلك وجد أن الإفرازات الورقية لكل من الـ .Nicotiana spp، والـ .Petunia spp تعد سامة بالتلامس لليرقات الصغيرة لحشرة Manduca sexta (عن Jenkins 1981، و Strange 1993).

هذا .. إلاّ أن وجود الشعيرات السطحية لا يلخو من آثار سلبية على مكافحة الحشرات؛ فمثلاً .. لا يفيد الزنبور المتطفل Encarsia formosa فى مكافحة ذبابة البيوت المحمية البيضاء .T vaporariorum فى الخيار بسبب كثرة شعيراته الورقية واستطالتها بشدة؛ الأمر الذى يعيق حركة الزنبور المتطفل عليها. وفى المقابل .. فإن حركة الزنبور على أوراق سلالة ملساء من الخيار كانت سريعة جدًّا إلى درجة أنها كانت تمر فوق يرقات الذبابة دون أن تلاحظها. ونظرًا لأن الشعيرات تورث كصفة مندلية بسيطة تغيب فيها السيادة .. فقد أمكن إنتاج هجن تجريبية انخفضت فيها كثافة الشعيرات بمقدار النصف، وازدادت فيها حركة الزنبور المتطفل بمقدار 30% - مقارنة بالأصناف العادية الكثيفة الشعيرات - وبالتالى انخفض فيها الوقت اللازم لعثور الزنبور المتطفل على يرقات الذبابة بمقدار 30% (جدول 14-3؛ عن De Ponti 1990).

3 – إضافة إلى ما تقدم بيانه من أمثلة .. فإن العنكبوت الأحمر العادى يتأثر سلبيًّا بوجود الشعيرات الغدية فى كل من جنس التبغ .Nicotiana spp، و Pelargonium xhortorum، كما أن للشعيرات الغدية فى Solanum berthaultii تأثير مماثل على العنكبوت الترسونيمى tersonmid mite (عن Panda & Khush 1995).

جدول (3-14): تأثير كثافة الشعيرات الورقية بالخيار على حركة وكفاءة تطفل الزنبور Enarsia formosa على ذبابة البيوت المحمية (عن DePonti & Mollema 1992).

دليل التأثير	أوراق الخيار	الملاحظة
سرعة السير	بها شعيرات كثيفة	0.21 مم/ ثانية
	ملساء	0.63 مم/ ثانية
	هجين	0.40 مم/ ثانية
فرصة العثور على العائل (الذباب)	بها شعيرات كثيفة	56%
	هجين	77%
المدة المستغرقة للعثور على العائل	بها شعيرات كثيفة	1564 ثانية
	هجين	1111 ثانية

لون الأوراق

نجد فى معظم الحالات أن النباتات ذات اللون الأخضر الداكن تكون أكثر جاذبية للحشرات عن تلك التى يكون لونها مشوبًا بالأصفر، هذا إلاّ أن النباتات الخضراء المصفرة تكون أكثر تفضيلاً لمن البسلة (Acyrthosiphon pisum). وتنجذب معظم أنواع المن وغيره من حشرات الـ Sternorrhyncha للأوراق التى تعكس ضوءًا فى المدى الموجى 500–600 نانوميتر، وهو المدى الأصفر إلى الأخضر. وينجذب المن المهاجر إلى الأوراق التى تعكس ضوءًا بطول موجى 500 نانوميتر أيًّا كان النوع النباتى.

ويؤثر لون الضوء المنعكس من سطح أوراق الكرنب وشدته على خاصية اختيار من الكرنب (Brevicoryne brassicae) لعائله. وبينما يكون الكرنب الأحمر هو الأقل جذبًا للمن المهاجـر، فإنه يعد الأفضل لتكاثره بعد حدوث الإصابة. كـــذلك فإن أصناف القطن ذات الأوراق الحمراء اللون تكون أقل جذبًا لسوسة اللوز Anthonomus grandis، كما تكون أصناف الكرنب الأحمر أقل قابلية للإصابة بدودتى الكرنب: Pieris rapae، و P. brassicae. وبينما تعد سلالات السورجم التى تحتوى صبغة أرجوانية اللون على درجة عالية من المقاومة للذبابة Atherigona soccata، فإنها تكون أكثر قابلية للإصابة بالعنكبوت الأحمر Oligonychus indicus. وتكون دودة الكرنب Pieris rapae أقل انجذابًا للنموات الخضرية الحمراء لصنف الكرنب بروكسل Rubine عن انجذابها للأصناف الخضراء (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003)، كذلك تكون أصناف الشوفان ذات الخلفات الحمراء وقواعد السيقان الزغبية أقل إصابة بحشرة Ocinella frit (الـ frit fly) من الأصناف الأخرى، وترجع مقاومة صنف البصل Spanish White لحشرة التربس Thrips tabaci - ولو جزئيًّا - إلى لون نموه الخضرى الأخضر الفاتح.

كذلك فإن أوراق القرعيات ذات اللون الفضى تعكس قدرًا أكبر من الأشعة فى الطول الموجى للأشعة الزرقاء وفوق البنفسيجية مما يجعلها أكثر مقاومة للمن عن القرعيات ذات الأوراق الخضراء الطبيعية (عن Smith وآخرين 1994).

شكل الأوراق والثمار ومدى صلابتها أو نضارتها

يرتبط شكل الأوراق - أحيانًا - بالمقاومة لبعض الحشرات؛ فمثلا .. تكون أصناف القطن ذات الأوراق الشبيهة بأوراق البامية مقاومة لدودة اللوز Anthonomus grandis؛ علما بأن تلك الأوراق تؤدى إلى زيادة معدل موت الحشرة التى يزداد تعرضها للجفاف (عن Smith وآخرين 1994).

ويزداد سمك الجدر الخلوية عند ترسيب السيليلوز واللجنين بها؛ وهو الأمر الذى يؤدى إلى زيادة صلابة الأنسجة ومقاومتها للتمزق، أو لمحاولات الحشرة لاختراقها أو لوضع بيضها فيها ومن أمثلة هذه الحالات ما يلى:

1 - وجد ارتباط سالب بين صلابة أوراق الكيل والكرنب بروكسل، وبين كمية النموات الخضرية التى تستهلكها خنفساء المسترد Phaedon cochleariae.

2 - وجد أن زيادة سمك جدر قرون اللوبيا تحد من اختراق حشرة Chalcodermus aeneus (الـ Cowpea curculio) للقرون.

3 - يؤثر سمك الأوراق وصلابة الأنسجة الوعائية فى الإصابة بالجاسيد فى القطن.

وعلى الرغم من أن صلابة الأنسجة النباتية تعد من وسائل الدفاع النباتية الكفؤه، فإن جهود التربية غالبًا ما تسعى إلى التخلص من تلك الصفات، وخاصة فى المحاصيل التى تزرع لأجل أوراقها أو ثمارها، وهى التى تزداد جودتها بنقص صلابة أنسجتها. ويبين جدول (14-4) بعض الأمثلة فى هذا المجال.

جدول (14-4): تأثير التغيرات النباتية المورفولوجية على المقاومة للحشرات (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

النوع النباتى	الحشرة	التغير المظهرى	التأثير
قصب السكر	Diatraea saccharalis	ورقة غمدية كاملة	لوحظت المقاومة
	Chilo sacchariphagus indicus	ورقة غمدية كاملة	لوحظت المقاومة
	الخنافس المغبرة	ورقة غمدية غير محكمة	لوحظت المقاومة
	الحشرات القشرية والـ eriophid mites	ورقة غمدية غير محكمة	لوحظت المقاومة
القطن	Pectinophora gossypiella, Helicoverpa zea, Heliothis virescens	غياب الغدد	ضعف القدرة على إيجاد موقع لوضع البيض
	Tarnished bug	غياب الغدد	لوحظت المقاومة
	Amrasca devastans and Bemisia tabaci	غياب الغدد	القابلية للإصابة
	Helicoverpa armigera and Earias spp.	غياب الغدد	لوحظت المقاومة
	Helicoverpa zea	Frego bract	لوحظت المقاومة
	Anthonomus grandis	Frego bract	لوحظت المقاومة
	Earias spp	Frego bract	أقل قابلية للإصابة
	Lygus hespenus	Frego bract	قابل للإصابة

الذرة	Helicoverpa zea	أغلفه كوز طويلة محكمة مع تكدس الشرابة فى قمة الكوز	لوحظت المقاومة
السورجم	Peregrinus maidis	أوراق مغلفة محكمة	لوحظت المقاومة
القمح	Hydrellia griseola	أوراق غمدية غير محكمة حول الساق	لوحظت المقاومة
البرسيم الحجازى	Bruchophagus roddi	القرون الحلزونية	لوحظت المقاومة
الباذنجان	ناخرة السوق والثمار	ثمار رفعية ذات كأس قصير ورفيع	لوحظت القدرة على تحمل الإصابة

شكل النمو النباتى

لا توجد حالات من المقاومة يكون مردها إلى شكل نباتى معين، وإن كان من الممكن أن يرتبط الشكل بالعوامل المسئولة عن المقاومة، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 – تكون أصناف القطن ذات الأوراق الشبيهة بأوراق البامية أقل تعرضًا للإصابة بغالبية آفات القطن الحشرية.

2 - تكون أصناف السورجم الأكثر طولاً، والتى تتباعد أوراقها عن بعضها البعض وتصنع زوايا ضيقة مع السيقان أقل قابلية للإصابة بالمن.

3 - تقل أعداد التربس التى تصيب البصل كلما ازداد انفراج الزاوية التى يصنعها نصل الورقة مع الساق الكاذبة، علمًا بأن الزاوية الضيقة قد توفر حماية أكثر للتربس ضد الظروف الجوية غير المناسبة (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

دور الخصائص النباتية البنائية (التركيبية والتشريحية) فى المقاومة

الشموع السطحية

يُغطى أديم الأوراق النباتية بطبقة من الشمع توفر حماية لها من الفقد الرطوبى والإصابة بالأمراض والحشرات. والشمع هو إيستر لحامض دهنى طويل السلسلة وكحول أليفاتى ذات وزن جزيئى مرتفع. وتتباين الشموع النباتية من أقل من 1% من الوزن الجاف للنبات إلى عدة أضعاف ذلك.

يدخل فى تركيب الدهون التى تغطى الأديم النباتى epicuticular lipids، المكونات الرئيسية التالية:

1 - المركبات الهيدروكربونية ومشتقاتها، مثل: الألكينات alkanes والكحولات الثانوية والكيتونات ketones والكيتولات ketols والداى كيتونات diketons.

2 - إسترات الشموع والمركبات القريبة منها، مثل: إسترات الألكيل alkyl esters والأحماض الدهنية، والألدهيدات aldehydes والكحولات الدهنية fatty alcohols.

3 - مركبات أخرى، مثل: β- sitosterol، و diterpene esters، و triterpenoids و phenolic esters.

هذا .. ويتباين تواجد تلك الدهون الأديمية - بمختلف أنواعها – باختلاف النوع النباتى، وعمر النبات، والظروف البيئية، والجزء النباتى، وسطح الورقة (العلوى أم السفلى)، وعمر الورقة، وظروف النمو (بالحقل أم بالصوبة أم بحجرات النمو). وما من شك فى أن تلك المركبات الكيميائية السطحية بالأوراق تؤثر فى سلوك الحشرات التى تمتلك القدرة على تعرف تلك المركبات سواء أكان ذلك باللمس أو بالشم. وتتباين كثيراً تلك الشموع السطحية فى تأثيراتها على سلوك الحشرات (جدولا 14-5، و 14-6) (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

جدول (14-5): الشموع النباتية السطحية التى تعمل كجاذبات للتغذية أو معيقات لها حسب محتواها الكيميائى (عن Panda & Khush 1995).

النبات	الحشرة	الهوية الكيميائية للشمع	التأثير على سلوك الحشرة
السورجم (النباتات الصغيرة)	Locusta migratoria	Surface wax: nonpolar compound (fractions containing n-alkaline, esters, and p-hydroxybenzaldehyde)	معيقة
Avena sativa	Oscinella frit	Hydroxy-β-diketones	جاذبة
Vicia faba	Acyrthosiphon pisum	Surface wax: alkanes C32	جاذبة / محفزة
Brassica spp.	Acyrthosiphon pisum	Surface wax: alkanes C29 fatty acid	معيقة
أوراق التفاح	Aphis pomi	Aqueous surface extract: phenolic glucoside, i.e., phloridzin	جاذبة / محفزة
		Rhopalosiphum	جاذبة / محفزة
	insertum		معيقة

	Aphis pisum		معيقة
	Myzus persicae, Amphorophora agathonica		
الأرز (صنف مقاوم)	Nilaparvata lugens	Epicuticular wax: higher proportion of short-chain hydrocarbons and carbonyl compounds	معيقة
أوراق التوت	Bombyx mori	Surface waxes: C26 and C28 alcohols	محفزة

تابع جدول (14-5).

			التأثير على
النبات	الحشرة	الهوية الكيميائية للشمع	سلوك الحشرة
البيسية والبلسم White spruce and balsam fir	Choristoneura fumiferana (spruce budworm)	Extracts of epicuticular wax	جاذبة / محفزة

القطن	Anthonomus grandis	Esters from surface wax of cotton buds and anthers (geranylgeraniol with C22 and phytol with C12 acid moiety)	جاذبة / محفزة
Cotton G. hirsutum variety Acala SJ2	Spodoptera littoralis	Phylloplane alkalinity from cotton leaf surface	معيقة

جدول (6-14): أمثلة لبعض حالات الشموع السطحية - المسئولة عن المقاومة للحشرات - فى النباتات (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

النوع النباتى	الحشرة	التأثير عليها
البروكولى	Phyllotreta albionica	الأوراق الشمعية أكثر مقاومة عن العادية
Brassica oleracea var. acephala	Brevicoryne brassicae	لا يمكن للحشرة استعمار النباتات غير الشمعية
	Aleyrodes brassicae	لا يمكن للحشرة استعمار النباتات غير الشمعية
Rubus phoenicolasius	Byturus tomentosus	النباتات الشمعية مقاومة
	Amphorophora rubi	النباتات الشمعية مقاومة

الخروع	Empoasca flavescens	القابلية للإصابة مع الغطاء الشمعى
	Achaea janata	كثافة حشرية منخفضة مع نقص أو اختفاء الغطاء الشمعى
السورجم	كل الحشرات	تختفى القشور الشمعية فى الهجن المقاومة
	المن	الأوراق الشمعية مقاومة
	Tetranychus telarius	الأوراق الشمعية مقاومة
	Macrosiphon avenae	الأصناف غير الملساء مقاومة

تابع جدول (14-6).

النوع النباتى	الحشرة	التأثير عليها
	Schizaphis graminum	ارتباط اختفاء الشموع بالمقاومة
القمح	ناخر الساق	للشمع السطحى تأثير معين
قصب السكر	Eldana saccharina	يُسهم الشمع السطحى فى المقاومة
البصل	Thrips tabaci	تزداد المقاومة فى النموات الشمعية

ومن الأمثلة الهامة على دور الشموع السطحية فى مقاومة الحشرات، ما يلى:

1 - مقاومة الراسبرى Rubus phoenicolasius ذو الإفرازات الشمعية الثقيلة لكل من خنفساء الراسبرى Byturus tomentosus، ونوع المن Amphorophora rubi.

2 - مقاومة بعض المحاصيل الصليبية لخنفساء الكرنب Phyllotreta albionica والفراشة ذات الظهر الماسى Plutella xylostella.

3 - تقضى يرقات بعض الحشرات وقتًا أطول بصورة معنوية فى الحركة على سطح أوراق الكرنب المغطاة بطبقة سميكة من الشمع عما فى الأصناف العادية.

وعلى الجانب الآخر، فإن الأوراق الشمعية للكيل تحفز تغذية من الكرنب Brevicoryne brassicae وذبابة الكرنب البيضاء Aleurodes brassicae.

كذلك فإن الشموع السطحية لبعض الأنواع النباتية تحتوى على مركبات كيميائية تؤثر فى سلوك الحشرات. وعلى سبيل المثال .. تحفز المركبات الكبريتية التى تدخل فى تكوين الشموع السطحية للبصل استقرارفراشة الكرات Acrolepiopsis assectella لأجل وضع بيضها، ويكون لمركبات الـ furanocoumarins التى تنبعث من شموع أوراق الجزر تأثيراً مماثلاً على ذبابة صدأ الجزر Psilia rosae (عن Smith وآخرين 1994).

الأديم النباتى

إن الأديم النباتى عبارة عن غشاء غير متجانس يتواجد فيه الشمع والبكتين والسيليلوز - بنسب متباينة - فى إطار من الكيوتين، ويلعب الأديم دورًا هامًّا فى قدرة الحشرات على التغذية والعثور على موقع لوضع بيضها.

السيليكا

تقدم جذور النباتات بامتصاص السيليكا الذائبة، حيث تنتقل فى النبات إلى أن تترسب فى بعض الأنسجة، ولقد أوضحت عديد من الدراسات وجود علاقة بين ترسبات السيليكا فى بعض الأنسجة النباتية ومقاومة النباتات لبعض الحشرات. تتعارض زيادة ترسبات السيليكا مع تغذية الحشرات وقدرتها على حفر أنفاق لها فى عوائلها، وتؤدى إلى سرعة استهلاك أجزاء فمها (عن Smith وآخرين 1994).

ولقد وجد أن عديدًا من الأنواع النباتية – وخاصة من العائلات: النجيلية Graminae، والنخيلية Palmae، والـ Cyperaceae - تحتوى على ترسبات من السيليكا على جدر البشرة، يكون لها دور فى مقاومة بعض الحشرات (جدول 14-7).

جدول (14-7): حالات من المقاومة للحشرات ترتبط بتواجد السيليكا على النباتات (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

النبات	الحشرة	تأثير السيليكا على الحشرة
الأرز	Chilo suppressalis	تآكل فك الحشرة
	Chilo zacconius	ضعف القدرة على البقاء
	Scirpophaga incertulas	قلة التواجد على النبات
السورجم	Atherigona varia soccata	قلة التواجد على النبات
	ناخرة الساق	قلة التواجد على النبات
القطن	نطاطات الأوراق	قلة التواجد على النبات
البامية	نطاطات الأوراق	قلة التواجد على النبات

ولقد لوحظت زيادة فى شدة الإصابة بحشرة Chilo suppressalis عندما زرع القمح فى الأراضى الفقيرة فى السيليكون عنه فى الأراضى الغنية به. كما وجد ارتباط بين مقاومة الشيلم لحشرة Oscinella frit (الـ frit fly) وبين محتواه من السيليكا.

صلابة السيقان والأنسجة وسمك الأنسجة

تتعارض صلابة مختلف الأجزاء والأنسجة النباتية مع تغذية الحشرات، كما أن زيادة سمك السيقان بزيادة عدد طبقات خلايا الأنسجة الخارجية يحد من قدرة الحشرات على اختراق السيقان، أو من وصول أجزاء فم الحشرات الثاقبة الماصة – كالمن – إلى اللحاء (عن Smith وآخرين 1994).

وتعرف أمثلة عديدة على التغيرات فى مدى صلادة سيقان النباتات وتأثير ذلك على قابليتها للإصابة ببعض الآفات الحشرية (جدول 14-8)، وتظهر تلك الحقيقة - بصورة خاصة - فى حالة حفارات الساق، ولكنها لا تقتصر عليها. ونجد – على سبيل المثال - أنه فى الجنس Cucurbita .. تعد السلالات ذات السيقان المتخشبة الصلبة التى تتميز بحزمها الوعائية المندمجة الصلبة المصدر الرئيسى لمقاومة حشرة Melittia cucurbita (حفار ساق الكوسة Squash Vine Borer)؛ حيث تعيق هذه الحزم الوعائية اختراق اليرقة للساق وتغذيتها عليه.

جدول (14-8): تأثير خصائص السيقان - والأعضاء النباتية الأخرى - وصلابتها على مقاومة النباتات للحشرات (عن Sadasivam & Thayumanavan 2003).

النوع المحصولى	الخصائص التشريحية	الحشرة	التأثير على الحشرة
القمح	ساق مصمته	ذبابة ساق الحنطة المنشارى Cephus cinctus	جفاف البيض وضعف حركة اليرقات
قصب السكر	صلادة قشرة الساق ومحتواها من الألياف	يرقات Diatrea saccharalis	لوحظت المقاومة
	بروزات مسننة بالعرق الوسطى للأوراق، ولجننة الجدر الخلوية وعدة طبقات من الخلايا الاسكليرونشيمية، وعدد من الأحزمة الوعائية	اليرقات الصغيرة لـ Diatrea saccharalis	لوحظت المقاومة
	ساق صلبة	Chilo sacchariphagus indicus	ضعف التغذية
	صلابة قشرة الساق	Chilo infuscatellus	ضعف التغذية
Cucurbita spp.	حزم وعائية صلبة متقاربة	حفار ساق الكوسة Melittia cucurbitae	المقاومة للاختراق والتغذية

تابع جدول (14-8).

النوع المحصولى	الخصائص التشريحية	الحشرة	التأثير على الحشرة
الطماطم البرية	طبقة سميكة من القشرة بالساق	المن Macrosiphum euphorbiae	منع القليم من الوصول إلى النسيج الوعائى
البرسيم الحجازى	حزم وعائية ملجننة	Empoasca fabae	ضعف القدرة على تحديد موقع لوضع البيض
اللفت وكرنب بروكسل	صلابة الأوراق	خنفساء المسترد Phaedon cochleariae	ضعف قدرة اليرقات على التغذية والنمو
اللوبيا	سماكة جدر القرن	سوسة اللوبيا Chalcodermus aeneus	ضعف القدرة على اختراق القرون
الأرز	زيادة سمك طبقة تحت البشرة	Chilo suppressalis	لوحظت المقاومة
	طبقات سميكة من الخلايا الاسكليرونشيمية تحت البشرة	حفار الساق	لوحظت المقاومة

	زيادة سماكة الطبقة الاسكليرونشيمية عن البارانشيمية	حفار الساق	لوحظت المقاومة
السورجم	لجننة واضحة - جدر سميكة تحيط بأغلفة الحزم الوعائية بمجموعة الأوراق الصغيرة القمية	Atherigona varia soccata	لوحظت المقاومة
الباذنجان	طبقات سميكة من الحزم الوعائية ذات الخلايا الملجننة	Leuinodes orbonalis	ضعف القدرة على اختراق القمة الخضرية
القطن	زيادة تصلب قمة الساق إلى الضعف	المن	لوحظت المقاومة

دور الخصائص النباتية الكيميائية الحيوية فى المقاومة

تباين أنواع المركبات الكيميائية المؤثرة فى الحشرات

تتباين أنواع المركبات المؤثرة على الكائنات الأخرى (allelochemicals) التى تفرزها النباتات، كما تتباين فى تأثيراتها على سلوك وفسيولوجيا الحشرات، كما يلى (جدولا 14-9، و 14-10):

جدول (14-9): بعض مركبات الأيض النباتية الثانوية واستجابة بعض الحشرات لها (عن Panda & Khush 1995).

مركبات الأيض الثانوية	رد فعل الحشرة	
	حشرات تُحَفَّز	حشرات تُعاق
Lignin	Bootettix argentalus	Ligurotettix coquilletti
Tannin	Anacridium melanorhodon	Helicoverpa zea
Cucurbitacin	Diabrotica undecimpunctata	Epilachna tredecimnotata
Cucurbitacin E and I	Diabroticites	Phyllotreta nemorum
Glucosinolate	Pieris rapae	Papilio polyxenes
Gossypol	Anthonomus grandis	Helicoverpa zea
Furanocoumarins	Papilio polyxenes	Spodoptera exempta, S. litura, S. eridania

Tomatine	Pieris brassicae	Leptinotarsa decemlineata, Empoasca fabae
Cyanogenic glycoside	Epilachna varivestris	Many phytopagous insects
Iridoid	Euphydryas editha	Locusta migratoria
Lupanin (quinolizidine alkaloid)	Macrosiphon albifons	Acyrthosiphon pisum

جدول (14-10): مركبات نباتية أمكن عزلها خلال الربع الأخير من القرن العشرين وكان لها تأثيرات مضادة للحشرات (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

اسم المركب	المصدر النباتي	الحشرات المختبرة	التأثير
Dearomatized isoprenylated phloroglucinol (DIPs) (Hypercalin A)	Hypericum calycinum	Deterrent and toxic to Utetheisa ornatrix	Visible and attractive UV pigments to insects
Rocaglamide derivatives	Aglaia spectabilis (Meliaceae)	Spodoptera littoralis (neonate larvae)	Not known

Withanolides	**Salpichroa origanifolia**	**Musca domestica**	**Antifeedant**
Tricin 5-O-glucoside	**Oryza sativa**	**White-back planthopper, Sogoitella furcifera**	**Probing stimulant**
Cinnamomin	**Camphor tree (Cinnamomum camphora)**	**Helicoverpa armigera and mosquito (Culex pipiens)**	**Ribosome inactivating protein**
Acylphloroglucinols	**Humulus lupulus (Cannabaceae)**	**Cereal aphids**	**Antifeedant**

تابع جدول (14-10).

اسم المركب	**المصدر النباق**	**الحشرات المختبرة**	**التأثير**
Alkamides: pellitorine, neopellitorine A&B	**Artemisia dracuculus**	**Sitophilus oryzae Rhyzopertha dominica**	**Insecticidal**

Release of volatiles such as hexenal	**---**	**Alfalfa**	**Cytochrome P450 enzymes: hydroperoxide lyase, peroxygenase**
Act on insect peritrophic membrane	**Homoptera, Lepidoptera**	**Beans, tomato**	**Chitinase**
---	**Lepidoptera, Coleoptera, Homoptera**	**Tobacco**	**Anionic peroxidase**
Alkaloid synthesis	**Homoptera**	**Catharanthus roseus**	**Tryptophan decarboxylase**
Antifeedant	**---**	**Senecio miser**	**Eremophilanolidae**
Antifeedant	**Spodoptera frugiperda, Ostrina nubilalis**	**Sandorium koetjape**	**Sandoricum**
Antifeedant	**Eurema hecabe mandarina**	**Osmunda japonica**	**Osmundalin**

Activation of defense genes	**Tetranychus urticae, Phytosciulus persimilis**	**Lima bean, Nicotiana attenuata**	**3-Hexenal, 3-hexenyl acetate, α-bergamotene**
Antifeedant	**Tribolium confusum Sitophilus granarius Trigoderma granarius**	**Taxus baccata (yew tree)**	**10-Deacetylbaccatin III & V**
Inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase and lipoxygenase	**Spider mites**	**Pelargonium**	**Anacardic acids**

أولاً: المركبات المفيدة للكائنات المنتجة لها (أى النباتات) alleomones

تتنوع تلك المركبات، كما يلى:

1 - الطاردات أو المنفرات repellents: تطرد الحشرات بعيدا عن النبات (جدول 14-11).

2 - مثيرات الحركة locomotor excitants: تُسرع من حركة الحشرات.

3 - المثبطات suppressants: تمنع قرض الحشرات أو وخزها للنبات.

4 - المعيقات deterrents: تمنع تغذية الحشرات أو تمنع اتخاذها موقعًا لوضع البيض (جدول 14-12).

5 – السموم Toxins: تُحدث بالحشرات أضرارًا مزمنة أو حادة.

6 – مُعيقات الهضم digestibility reducing chemicals: تتعارض مع عمليتى الاستخدام والهضم الطبيعيتين لغذاء الحشرة.

ثانيًا: المركبات المفيدة للكائنات المتلقية لها (أى الحشرات) kairomones

تتنوع تلك المركبات، كما يلى:

1 - الجاذبات attractants: تجذب الحشرة نحو النبات.

2 - الموقفات أو الكابحات arrestants: تبطئ حركة الحشرة أو توقفها.

3 - محفزات بدء التغذية - بالقرض أو بالوخز - واتخاذ الحشرة موقعا لوضع بيضها (جدول 14-13).

4 - محفزات التغذية feeding stimulants: تحفز استمرار تغذية الحشرة (عن Panda & Khush 1995).

جدول (14-11): بعض الأمثلة للمركبات النباتية الطاردة للحشرات (عن Panda & Khush 1995).

النبات	المركب الطارد	الحشرة المتأثرة
الأرز	ناتج تقطير الأصناف المقاومة	Nilaparvata lugens (brown planthopper)
		Nephotettix virescens (green leafhopper)
المواد المتطايرة من النباتات الخضراء	Thymol (aromatic) and carvacrol (monoterpene alcohol)	Cnaphalocrocis medinalis (rise leaffolder)
فول الصويا	ناتج تقطير الأصناف المقاومة	Trichoplusia ni (cabbage looper)
Pinus silvestris	α-Pinene, 3-carene	Blastophagous piniperda (pine beetle)

جدول (14-11): بعض الأمثلة للمركبات النباتية الطاردة للحشرات (عن Panda & Khush 1995).

النبات	المركب الطارد	الحشرة المتأثرة
التَّنوب	Resin vapors (monoterpenes)	Scolytus ventralis (fir engraver beetle)
الطماطم	التوماتين Tomatine	Leptinotarsa decemlineata (Colorado potato beetle)
الفلفل	الكابسايسين Capsaicin	Colorado potato beetle
التبغ	النيكوتين Nicotine	Colorado potato beetle
الذرة	زيت أساسى	Helicoverpa zea (Cornworm)
Nicandria sp.	Alcohol C22H27O	Manduca sexta (tobacco hornworm)
الكاجو	Anacardiac acid	Reticulitermes sp. (termite)
البرسيم الحجازى	حامض التانيك Tannic acid	Hypera postica (alfalfa weevil)

جدول (14-12): منفرات اتخاذ الحشرات مواقع لوضع بيضها insect oviposition deterrents (عن Panda & Khush 1995).

العائل النباتي	المركب المنفر أو العائق (أ)	الحشرة المنَفَّرة
الكرنب	Coumarin and rutin	Pieris rapae, plutella xylostella
Erysimum cheiranthoides	n-Butanol	Pieris rapae
Crucifer Erysimum cheiranthoides	Specific cardenolides	Pieris rapae
السورجم	ODP	Atherigona soccata
التفاح	ODP	Rhagoletis pomonella
الأرز Oryza sativa variety TKM6	Steam distillate, oviposition inhibitor pentadecanal	Chilo suppressalis
أوراق صنف الذرة المقاوم X304C Pioneer	Aqueous extracts	Spodoptera frugiperda

الكرنب	ODP	Trichoplusia ni
البصل	Minute quantities of diallyl disulfide	Delia antiqua
Rose-of-Sharon Hibiscus syriacus L. calyx	Unsaturated fatty acids and their methyl esters	Anthonomus grandis (Boh.)

أ – ODP = فيرمون مُعيق لاتخاذ الحشرة موضعًا لوضع البيض oviposition deterrent pheromone.

جدول (14-13): المحفزات النباتية لاتخاذ الحشرات لمواضع وضع بيضها ovioposition stimulants (عن Panda & Khush 1995).

العائل النباتى	المركب الكيميائى	الحشرة المحَفَّزَة
الكرنب	Allylnitriles	Pieris brassicae
	Allylisothiocyanate	Delia radicum (cabbage rootfly)
	Indole glucosinolate	Pieris rapae (cabbage butterfly)
الصليبيات	Sinigrin (allylglucosinolates)	Pieris brassicae
	Water-soluble compounds other than glucosinolate	Pieris rapae
	Sinigrin	Hylemya brassicae

البطاطس	‘Green leaf’ volatile	Leptinotarsa decemlineata
البصل	n-dipropyl disulfide and n-propyl mercaptan	Delia antiqua
القرعيات	Cucurbitacins	Diabroticina Aulacophorina beetles
الذرة		
الحريرة	C_2-C_{12} alkanols, phenyl acetaldehyde	Helicoverpa zea
الحبوب	Hexadienal	Helicoverpa zea
الأغلفة	Decadienal	Helicoverpa zea
النورة المذكرة	Esters: ethyl acetate, ethyl cinnamate; ketones: pentanone, nonanone, octadienone; methylated benzenes and naphthalenes	Helicoverpa zea
أوراق الطماطم	Nitrogen-containing phenolic glycoside ($C_{17}H_{29}O_{10}N$)	Manduca sexta

	Aqueous extracts and steam distillates	Manduca sexta
	Ethanolic extracts	Phthorimaea operculella (potato tuber moth)
	Foliar surface chemical	Keiferia lycopersicella (potato pinworm)
الطماطم البرية	Hexane extracts from glandular	Helicoverpa zea
أوراق Lycopersicon hirsutum	trichomes – sesquiterpenes (C15H22O2)	

تابع جدول (14-13).

العائل النباتى	المركب الكيميائى	الحشرة المحَفِّزَة
سطح ورقة Nicotiana tabacum	Combinations of diterpene duvanes and sucrose esters of C3-C7 fatty acids	Heliothis virescens
أوراق Plantago lanceolata	Iridoid glycoside (catapol)	Junonia coenia

أوراق الحمضيات	Flavone glycoside	Papilio protenor
الجزر	Luteolin 7-O-(6"-O-malonyl)-β-D-glucopyranoside and trans-chlorogenic acid	Papilio polyxenes
مستخلصات الأوراق		
الشموع الأديمية	Falcarindol-propenylbenzene trans-asarone (2,4,5-trimethoxy-1-propenylbenzene)	Psila rosae F.
أوراق التبغ	Duvane diterpenes (α- and β-4,8, 13 duvatrien-1–ols and α–and β-4,8,13-duvatriene- 1,3-diols)	Heliothis virescens (F.)
المكونات الكيميائية للأديم		

نباتات الحمضيات	Volatiles from lime leaves combined with moisture	Papilio demoleus
Citrus plant Citrus unshiu Marc.	Flavonone glycosides, vicenin-2,6,8-di-C-β-D-gluco-pyranosy-lapigenin mixed with another unidentified component	Papilio ruthus
Sour orange Citrus natsudaidai epicarp	Flavone glycoside, naringin (naringenin-7-β neohesperidoside)	Papilio protenor
شجرة الصنوبر	Pine monoterpenes: α and β pinene	Panolis flammea
ثمرة التفاح	Isomers of farnesene	Lasperesia pomonella
أوراق الأرز	Oryzanone	Chilo suppressalis

الخصائص الكيميائية المؤثرة فى سلوك الحشرات

أولا: المركبات الكيميائية الطاردة

تعد بعض المركبات الكيميائية التى توجد طبيعيًّا فى النباتات طاردة للحشرات والأكاروسات، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - بعض الزيوت العطرية التى توجد فى أصناف الطماطم المقاومة للعنكبوت الأحمر.

2 - يعيق أيون النترات - فى صورة نترات الأمونيوم - تغذية حشرة Sitona cylindricallis فى البرسيم الحلو sweet clover.

3 - تعمل مركبات الـ Saponins التى توجد فى جذور بعض أصناف البرسيم الحجازى على إعاقة تغذية حشرة Costelytra zealandica (الـ grass grub).

ثانيًا: غياب محفزات التغذية

تستجيب الحشرات لمختلف محفزات التغذية فى اختيار عوائلها، ويؤدى غياب هذه المحفزات إلى حالة عدم التفضيل، ومن أمثلة ذلك ما يلى:

1 - ترجع مقاومة صنف الأرز Mudgo لنطاطات النبات البنية إلى محتواه المنخفض من الحامض الأمينى aspargine الذى يعمل كمحفز لتغذية هذه الحشرة.

2 - ترجع مقاومة بعض الصليبيات لمن الكرنب إلى محتوى أوراقها المنخفض من مركب الـ sinigrin الذى يحدد انتخاب الحشرة لعائلها.

3 - تنجذب حشرة Sitona cylindricallis لمركب الكيومارين Coumarin الذى يعد أحد مكونات عائلها الرئيسى .Melilotus spp (عن Russell 1978، و Norris & Kogan 1980، و Van Emden 1987).

الخصائص الكيميائية المؤثرة فى التضادية الحيوية

من أمثلة ذلك ما يلى:

1 - تعد إفرازات الشعيرات الغدية لعديد من الباذنجانيات (خاصة الأجناس Lycopersicon، و Solanum، و Nicotiana) سامة لعديد من الحشرات والأكاروسات. كذلك تثبط إفرازات شعيرات أوراق النوع Medicago disciformis نمو حشرة Hypera postica (سوسة البرسيم الحجازى) عندما يكون تركيز هذه الإفرازات منخفضًا، بينما تقتلها عندما يكون تركيزها مرتفعًا.

2 - اكتشفت ثلاثة مركبات ذات علاقة بمقاومة الذرة لحفار ساق الذرة الأوروبى، كما وجد أن الاختلافات بين الأصناف فى مركب واحد - على الأقل - من هذه المركبات يمكن استخدامها كدليل للانتخاب لمقاومة حشرة Ostrinia nubilalis.

3 - ترتبط مقاومة القطن لعديد من الحشرات بالمحتوى النباتى المرتفع من مركب الـ gossypol.

4 - ترتبط مقاومة القمح والشعير لحشرة البقة الخضراء بالتركيز المرتفع لمركب الـ benzyl alcohol.

5 - يحتوى أحد أصناف البرسيم الحجازى المقاوم للمن على تركيز مرتفع من السابونينات Saponins بالأوراق والسيقان.

6 - تحتوى أوراق النوع L. hirsutum f. glabratum - المقاوم لعديد من الآفات؛ منها: دودة ثمار الطماطم، والـ carmine red spider mite - على مركب شديد السمية لهذه الآفات (عن Russell 1978).

7 - تلعب الكيوكربتسينات Cucurbitacins دورًا مزدوجًا فى المقاومة للآفات فى القرعيات، فتوجد علاقة طردية بين تركيز الكيوكربتسينات وبين القابلية للإصابة بحشرة خنفساء الخيار فى الكوسة (Sharma & Hall 1971)، بينما توجد علاقة عكسية بالنسبة للعنكبوت الأحمر فى الخيار، حيث تكون النباتات الخالية من الكيوكربتسينات على درجة عالية من القابلية الإصابة.

وجدير بالذكر أن هذه المركبات التى اكتشفت سميتها للآفات قد تكون ضارة أيضًا للإنسان. وربما قد تصدر مستقبلا قوانين تمنع زيادة تركيز هذه المركبات عن حد معين فى غذاء الإنسان؛ الأمر الذى يقلل من الاعتماد عليها عند اختيار مصادر المقاومة فى برامج التربية (عن Jenkins 1981).

ويوثق جدولا (14-14)، و (14-15) عديدًا من حالات مضادات التغذية للحشرات فى كل من عوائلها وغير عوائلها، على التوالى.

جدول (14-14): مضادات تغذية الحشرات فى عوائلها (عن Panda & Khush 1995).

النبات	المركبات المضادة للتغذية	الحشرة
القطن (Gossypium spp.)	Gossypol (dimeric sesquiterpenoid) and related terpenoids	Heliothis spp. and Epicauta sp. (blister beetle)
		Spodoptera littoralis
		Earias insulana (spiny bollworm)
	Isoquercitrin, quercitrin, quercetin	Helicoverpa zea, Pectinophora gossypiella (pink bollworm)
	Gossypol, gossypol-related triterpenoids, sesquiterpenoid quinones, hemigossypols, and cyanidin-3-β-glucoside (chrysanthemin)	
البرسيم الحجازى (Medicago spp.)	Triterpenoid saponin	Acyrthosiphon pisum (pea aphid)

Tetranychus urticae (mites) Phyllotreta nemorum (leaf beetles)	Cucurbitacin	Cucumis الخيار salivus (Cucurbitaceae)
Aulocophora foveicollis (red pumpkin beetle)	Triterpenoid momordicine II, 23-O-β-glucopyranoside of 3,7,23-trihydroxycucurbita-5,24-dien- 19-al	أوراق الشمام المر (momordica charantia Linn)
Leptinotarsa decemlineata (Colorado potato beetle), Manduca sexta (tobacco hornworm)	Glycosides of steroidal alkaloids, i.e., demissine, solacauline, tomatine, leptine I and II	الباذنجانيات:البطاطس والطماطم
Helicoverpa zea (tomato fruitworm)	2-Tridecanone (methylketone)	الطماطم البرية (Lycopersicon hirsutum f. glabratum)
Helicoverpa zea	Orthodihydroxy phenolics: rutin, chlorogenic acid, and α-tomatine; new caffeyl derivative of an aldaric acid	الطماطم (Lycopersicon esculentum)

تابع جدول (14-14).

النبات	المركبات المضادة للتغذية	الحشرة
البطاطس (Solanum tuberosum)	Tomatine	Empoasca fabae (potato leafhopper)
بيئة مغذية	Indolizidine alkaloid: castanospermine	Acyrthosiphon pisum
الترمس	Quinolizidine alkaloids	Acyrthosiphon pisum
Roots of composite coltsfoot (Tussilago farfara L.)	Pyrrolizidine alkaloid: senkirkine	Choristoneura fumiferana (Clemens) (spruce budworm)
Leaves of Lupinus polyphyllus (Lindl)	Lupine alkaloid 13-trans- cinnamoyloxy-lupanine, 13-tigloyloxy-lupanine	Choristoneura fumiferana
Solanum spp.	Solanum alkaloids, tomatine, solanidine, α-chaconine	Choristoneura fumiferana
الشعير (Hordeum sp.)	Indole alkaloid: gramine	Schizaphis graminum (greenbug)

التفاح	Phloridzin (flavonoids)	Acyrthosiphon pisum, Myzus persicae, Amphorophora agathonica, Aphis pomi
القمح صنف Amigo	Polar phenolic fraction (flavone tricin)	Schizaphis graminum biotype C (greenbug)
الأوراق الحديثة للسورجم	p-Hydroxybenzaldehyde, dhurrin, and procyanidin	Schizaphis graminum (greenbug)
		Atherigona soccata (sorghum shoofly)
	Cyanohydrin glucoside, dhurrin, and phenolic acids	Locusta migratoria (migratory locust)
البرسيم الحجازى (Medicago spp.)	2-3% coumarin	Hypera postica (alfalfa weevil) Sitona cylindricollis (sweet clover weevil)
	Dicoumarol	Acyrthosiphon pisum (pea aphid)
Sweet clover (Melilotus spp.)	Coumarin	Listroderes costirustris (vegetable weevil)

	cis-o-HCA glucoside and coumarin	Epicauta sp. (blister beetle)
القمح (Triticum aestivum) والراى (Secale cereale)	Hydroxamic acid (DIMBOA)	Metopolophium dirhodum (wheet aphid)

تابع جدول (14-14).

النبات	المركبات المضادة للتغذية	الحشرة
بيئة صناعية	Hydroxamic acid (DIMBOA)	Schizaphis graminum (greenbug)
الذرة (Zea mays)	Hydroxamic acids	Rhopalosiphum maidis (corn leaf aphid)
الأوراق الحديثة للذرة	DIMBOA	Ostrinia nubilalis (European corn borer)
الصليبيات	Mustars oil glycoside: sinigrin	Pieris brassicae

DIMBOA: 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one. HCA, hydrocyinnamic acid.

جدول (14-15): مضادات تغذية الحشرات فى غير عوائلها (عن Panda & Khush 1995).

النبات	المركبات المضادة للتغذية	الحشرة
بذور النيم Azadirachta indica, Melia azedarach	Terpenoid, azadirachtin	Locusta migratoria
مستخلصات قلف الجوزية	Aglycone	Scolytus multistriatus (small
Carya ovata	5-hydroxy-1,4-naphthoquinone	European elm bark beetle)
	(juglone)	
	β-Benzoquinone	Scolytus multistriatus
الأوراق الإبرية الحديثة للصنوبر	13-Keto-8(14)-podocarpen-18-oic	Neodiprion rugifrons (pine
Pinus banksiana	acid (terpenoid derivative)	sawflies)
قلف نبات	Warburganal	Spodoptera exempta
Warburgia ugandensis		(nutgrass armyworm)
Hymenaea courbaril	Several sesquiterpene	
	Hydrocarbons, caryophyllene,	Spodoptera exigua (beet

armyworm)	α-selinene, β-selinene, and	
	β-copaene	
	Germacranolide-type sesquiterpene	Vernonia spp. (Compositae)
	lactone, glaucolide A	
Dysdercus koenigi (pyrrhocorid bug), Tribolium castaneum (red flour beetle), Phthormea operculella	Sesquiterpene lactone, parthenin	Parthenium hysterophorus
		أوراق نبات
Spodoptera litura (tobacco cutworm)	Germacrane sesquiterpenes, shiromodiol monoacetate, and shiromodiol diacetate	Parabenzoin trilobum ('Shiromoji' in Japanese)

تابع جدول (14-15).

الحشرة	المركبات المضادة للتغذية	النبات
Spodoptera eridania (southern armyworm), Melanoplus sanguinipes (migratory grasshopper), and Homoeosoma electellum (sunflower moth)	Sesquiterpene lactone, maximilin C	Glandular trichomes on the anther tips of wild sunflower Helianthus sp.
Spodoptera litura, Euproctis subflava, Ostrinia nubilalis	Several clerodane diterpenes including clerodendrin A; clerodendrin B	Clerodendrum spp. (Verbenaceae)
Lymantria dispar (gypsy moth)	Grayanoid diterpenes, grayanotoxin III and kalmitoxin I and II	

Anthonomus grandis, Heliothis virescens (tobacco budworm)	**Anthranilic acid, gentisic acid, senecioic acid, trans-cinnamic acid, trans-cinnamaldehyde, and camphor**	**Peruvian plant Alchornea triplinervia (Euphorbiaceae)**
Helicoverpa zeea	**Four new bufadienolide steroids; abyssinin, abyssinolm A, B, and C**	**East African medicinal plant Bersama abyssinica (Melianthaceae)**
Spodoptera littoralis	**Isoboldine alkaloid**	**Cocculus trilobus**
النمل الأبيض	**Anthraquinone, 2-methyl anthraquinones, 2-hydroxymethyl anthraquinone, and 2-formyl anthraquinone**	**Solanum berthaulii, woody plants**
Scolytus multistriatus	**Phloretin (flavonoids)**	**Malus pumila**
Scolytus multistriatus	**Quercetin**	**Quercus macrocarpa**
Nilaparvata lugens (rice brown planthopper)	**Steam distillates**	**Wild rice Oryza officinalis**
Cnaphalocrocis medinalis (rice leaffolder)	**Steam distillates**	

دور الخصائص النباتية فى القدرة على التحمل

فى حالات القدرة على التحمل tolerance .. لا يتأثر نمو الآفة، أو تطفلها،   أو تكاثرها بأية صورة، إلا أن النباتات القادرة على تحمل الإصابة لا تتأثر كثيراً من جراء ذلك، حيث ينمو النبات بصورة طبيعية، ويعطى محصولا أعلى مما يعطى الصنف الحساس، إذا ما أصيب كلاهما بنفس الآفة بنفس الدرجة.

ترجع حالة القدرة على تحمل الإصابة إلى التأثير المتجمع لعديد من صفات النمو النباتى التى يصعب - غالبًا - التعرف عليها. ومن أمثلة هذه الصفات: قوة النمو، وقدرة النبات على تعويض ما فقده من نمو جراء تغذية الآفة عليه، والقوة الميكانيكية للأنسجة والأعضاء النباتية.

ومن أهم مزايا القدرة على تحمل الإصابة أنها لا تشكل أى ضغط على الحشرة لتكوين سلالات فسيولوجية جديدة.

ومن أمثلة حالات القدرة على تحمل الإصابة ما يلى:

1 - تذبل أوراق بعض أصناف بنجر السكر بصورة نهائية بسرعة كبيرة عقب إصابتها بأعداد كبيرة من حشرة المن Myzus persicae، بينما تبقى أوراق أصناف أخرى منتصبة تحت نفس الظروف، وهى التى تكون أكثر تحملا للإصابة.

2 - يعانى عديد من أصناف الكرنب بروكسل قليلا من الإصابة الشديدة بمن الكرنب، بينما تتأثر أصناف أخرى بشدة لدى إصابتها بأعداد قليلة من الحشرة.

3 - تؤثر البقة الخضراء فى نباتات الحبوب بامتصاص عصارتها، وبإفراز سموم بالأوراق أثناء تغذيتها عليها، وتتأثر بعض النجيليات بدرجة أقل بهذه السموم، ربما بسبب قلة حساسيتها لها، أو بسبب قدرتها على تحويل تلك الإفرازات إلى مركبات أخرى غير سامة للنبات (عن Russell 1978).

4 - تتغذى يرقة حشرة Diabrotica virginifera على جذور نبات الذرة مسببة أضرارًا تتراوح ما بين ضعف فى قدرة النبات على امتصاص الماء والعناصر الغذائية، إلى ضعف التثبيت فى التربة، وما يتبعه من رقاد النباتات. وقد وجد أن أصناف وسلالات الذرة تختلف فى قدرتها على تكوين جذور جديدة لتحل محل الجذور المصابة. وتبين أن الأصناف القادرة على تحمل الإصابة كان نموها الجذرى - تحت ظروف الإصابة - أكبر منه تحت ظروف عدم الإصابة، فى الوقت الذى نقص فيه النمو الجذرى للأصناف الحساسة - تحت ظروف الإصابة - بمقدار 20% (عن Tingey 1981).

دور مركبات الأيض الثانوية فى المقاومة

تقوم النباتات بتمثيل مركبات كيميائية طاردة أو سامة لمعظم الحشرات والحيوانات الآكلة للأعشاب (جدول 14–16)، وهى مركبات تشكل حوالى 10% من الكتلة الجافة للنباتات، وتعرف باسم مركبات الأيض الثانوية secondary metabolites. يطلق على تلك المركبات - أيضًا - اسم allelochemicals (أى المركبات التى تنظم التفاعلات بين مختلف الأنواع)، ويقدر عددها بنحو 10000 مركب. توفر معظم هذه المركبات حماية للنباتات ضد الحيوانات (والحشرات) الآكلة للأعشاب، ولكن بعضها الآخر يعد جاذبًا للحشرات الملقحة أو للحيوانات التى تأكل الثمار؛ ليتحقق من خلال مخلفاتها مزيدًا من الانتشار لبذور النبات.

التقسيم العام لمركبات الأيض الثانوية

يبين جدولا (14-17)، و (14-18) التقسيم العام لمركبات الأيض الثانوية تبعًا لمصدرين مختلفين.

هذا .. وتُنتج النباتات ثلاث فئات رئيسية من مركبات الأيض الثانوية، هى: التربينات terpenes، والفينولات phenolics، والمركبات المحتوية على النيتروجين nitrogen- contaning compounds (شكل 14-1).

Oleandrin

الأولياندرين عبارة عن جلوكوسيد يؤثر فى القلب ، ويوجد فى أوراق وسيقان نباتات الدفلة

Gossypol

الجوسيبول عبارة عن تربين terpene يُنتج بواسطة خلايا الشعيرات ببشرة أوراق نبات القطن، وهو يحمى القطن من الإصابات الحشرية والمرضية.

α-Ecdysone

الألفا إكدايسون عبارة عن هرمون انسلاخ تحتاجه الحشرات لأجل التطور الطبيعى ليرقاتها، ويُنتج بكميات كبيرة بواسطة بعض النباتات.

Solanine

السولانين عبارة عن مركب قلوانى سام ينتج بواسطة درنات البطاطس لدى تعرضها للضوء

$HOOC-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-O-NH-C(=NH)-NH_2$

Canavanine

$HOOC-CH(NH_2)-CH_2-CH_2-CH_2-NH-C(=NH)-NH_2$

Arginine

الأرجنين أحد الأحماض الأمينية التى تدخل فى تركيب البروتين، والكانافانين هو نظير للأرجينين، وعندما يحل محله فى تكوين البروتين فإن البروتين يفقد فاعليته.

شكل (1-14): التركيب الكيميائى البنائى لستة من مركبات الأيض الثانوية (عن Chrispeels & Sadava 2003).

ولمزيد من التفاصيل عن مركبات الأيض الثانوية وأهميتها فى مقاومة الأمراض والآفات .. يراجع Hallahan وآخرين 1992).

جدول (14-16): بعض منتجات الأيض النباتية الثانوية ذات النشاط القاتل للحشرات (عن Gatehouse 1991).

المركب	المصدر النباتى
مضادات الأيض غير البروتينية	
Alkaloids	
2.5-dihydroxymethyl	Lonchocarpus
3,4-dihydroxypyrrolidine (DMDP)	
Castanospermine	Castanospermum australe
Non-protein amino acids	
p-aminophenylalanine	Vigna
Terpenoids	
pyrethroids	Compositae
juvabione	Abies balsamea
gossypol	Gossypium hirsutum
Rotenoids (isoflvanoids)	Lonchocarpus salvadorensis
Tannins	Vicia faba
Polysaccharides	
pectosans	Phaseolus vulgaris
heteropolysaccharides	Phaseolus vulgaris
Glucosinolates	Cruciferae
Cyanogenic glycosides	Lotus comiculatus

مضادات الأيض البروتينية	
Lectins	Phaseolus vulgaris
Arcelin	Phaseolus vulgaris
Protease inhibitors	Vigna unguiculata
	Solanaceae
α-Amylase inhibitor	Phaseolus vulgaris
	Phaseolus vulgaris

جدول (14-17): الأقسام الرئيسية لمركبات الأيض الثانوية التى تلعب دورًا فى التفاعلات بين النبات والحيوان (Chrispeels & Sadava 2003).

الفئة	عدد المركبات	التوزيع	النشاط الفسيولوجى
المركبات النيتروجينية:			
Alkaloids	5500	توجد خاصة فى الجذور والأوراق والثمار	الكثير منها سامًّا ومر الطعم
Amines	100	غالبًا فى الأزهار	الكثير منها طاردًا وبعضها يُحدث هلوسة

تابع جدول (14-17).

الفئة	عدد المركبات	التوزيع	النشاط الفسيولوجى
أحماض أمينية غير بروتينية	400	بذور البقوليات خاصة، ولكنها تنتشر بصورة عامة	الكثير منها سامًّا
Cyanogenic glycosides	30	تتواجد فى ثمار وأوراق بعض الأنواع	سامّة كـ HCN
Glucosinolates	75	11 عائلة نباتية	لاذعة ومرة (كـ isothiocynates)
التربينات Terpenoids:			
Monoterpenes	1000	واسعة الانتشار خاصة فى الزيوت الأساسية	رائحة لطيفة
Sesquiterpene lactones	600	العائلة المركبة بصورة أساسية	بعضها مر وسام وبعضها يسبب الحساسية
Diterpenoids	1000	توجد خاصة فى اللبن النباتى والراتينج	بعضها سام
Saponins	500	أكثر من 70 عائلة نباتية	تحلل كرات الدم الحمراء
Limonoids	100		مرة الطعم
Cucurbitacins	50		مرة الطعم وسامة

Cardenolids	150		سامة ومرة
Carotenoids	350	الأوراق والأزهار والثمار	ملونة
الفينولات Phenolics:			
الفينولات البسيطة	200	الأوراق والأنسجة الأخرى	مضادة للميكروبات
الفلافونات	1000	مغطاة ومعراة البذور والسراخس	ملونة غالبًا
Quinones	500		ملونة
مركبات أخرى:			
Polyacetylenes	650		بعضها سام

جدول (14-18): الأقسام الرئيسية لمركبات الأيض الثانوية ذات العلاقة بالمقاومة للحشرات فى النباتات (عن Panda & Khush 1995).

القسم الرئيسى	تحت القسم	الأصل أو المسار الأيضى	عدد المركبات المعروفة	التوزيع
السطح النباتى	Alkanes aldehydes, ketones, waxes (long chain)	Acetate-malonate	غير محدد	توجد غالبا على سطح الأوراق النباتية كشموع أديمية
Carbohydrates / polymers	Lignins and tannins (phenolic polymers)	Shikimic acid	غير محدد	تشكل جزءًا أساسيًّا من مكونات الجدر الخلوية لكل النباتات الوعائية
Terpenoids	Monoterpenoids	Acetate-mevalonate		تتواجد على نطاق واسع فى الزيوت الأساسية
	Iridoids		600	يقتصر وجودها على 57 عائلة من ذوات الفلقتين

يكثر وجودها فى الصنوبريات	700		Others	
توجد على نطاق واسع			Sesquiterpenoids phytojuvenile hormones	
توجد فى زيت السمسم			Sesamin and sesamolin	
Ocimum basilicum			Juvocimenes	
توجد فى نبات الريحان Cyperus iria (Cyperaceae)			Juvenile hormone III	
توجد فى Ageratum houstonianum (Compositae)			Antijuvenile hormones	
			precocenes 1 and 2	

	Sesquiterpene Lactones		3500	توجد غالبا فى العائلة المركبة وتتركز فى الشعيرات الغدية
	Others		3500	توجد على نطاق واسع
	Diterpenoids			يكثر انتشارها، وخاصة فى اللبن النباتى وصموغ الصنوبريات
	Clerodanes		400	توجد فى عائلات: Lamiaceae والمركبة وغيرهما

تابع جدول (14-18).

القسم الرئيسى	تحت القسم	الأصل أو المسار الأيضى	عدد المركبات المعروفة	التوزيع
	Others		2500	شائعة الانتشار
	Triterpenoids			
	Cucurbitacins		20	يقتصر وجودها أساسا على العائلة المركبة

	Cardenolides		150	Asclepiadaceae وغيرها
	Limonoids		300	أساسًا في Rutaceae, و Mellaceae
	Quassinoids		200	و Simaroubaceae
	Steroidal and triterpene saponins		1200	شائعة الانتشار
	Others		1500	شائعة الانتشار
Antihormones (steroids)	Phytoecdysones	Acetate-mevalonate and other pathways	70	توجد فى أكثر من 100 عائلة نباتية
Phenolics	Simple phenols	Shikimic acid	200	توجد فى الأوراق النباتية وفى أنسجة أخرى أيضًا
	Coumarins	Shikimate-chorismate	300	توجد فى 70 عائلة من ذوات الفلقتين

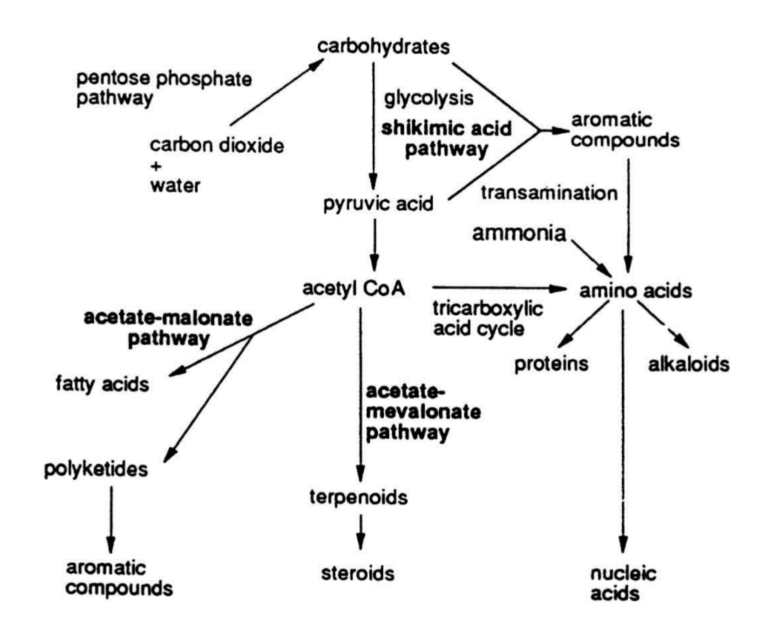
توجد فى مغطاة البذور ومعراة البذور والسراخس	4000	Skikimate-malonate	Anthocyanins	Flavonoids
			Flavonols	
			Flavones	
			Isoflavonoids	
توجد فى حميع العائلات النباتية عدا السراخس والآشنات	800	Shikimate-mevalonate	Benzoquinone Naphthoquinone Anthraquinone Extended quinone	Quinones
تنتشر بكثرة فى مغطاة البذور فى الجذور والأوراق والثمار	6500	Heterogeneous group	Benzylisoquinoline	Alkaloids
			Monoterpene indole	
			Simple indole	
			Pyrrolizidine	
			Quinolizidine	
			Polyhydroxy	

تابع جدول (14-18).

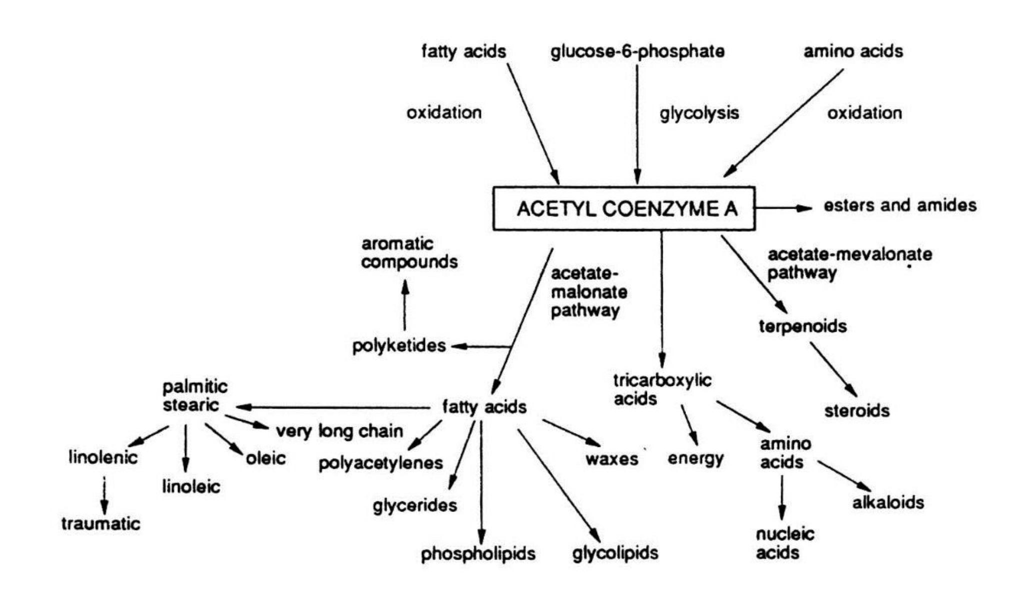
القسم الرئيسى	تحت القسم	الأصل أو المسار الأيضى	عدد المركبات المعروفة	التوزيع
Nonprotein amino acids	L-Canavanine	Amino acid derivatives	400	توجد خاصة فى بذور البقوليات
	L-Arginine			
Cyanogenic glycosides	Dhurrin Amygdalin	Amino acid derivatives	60	يعرف وجودها فى 2500 نوع نباتى من 130 عائلة
Glucosinolates	Isothiocyanate	Amino acid derivatives	100	توجد فى الصليبيات ونحو 10 عائلات أخرى
	Allylisothiocyanate			
	Sinigrin			

مسارات تمثيل مركبات الأيض الثانوية

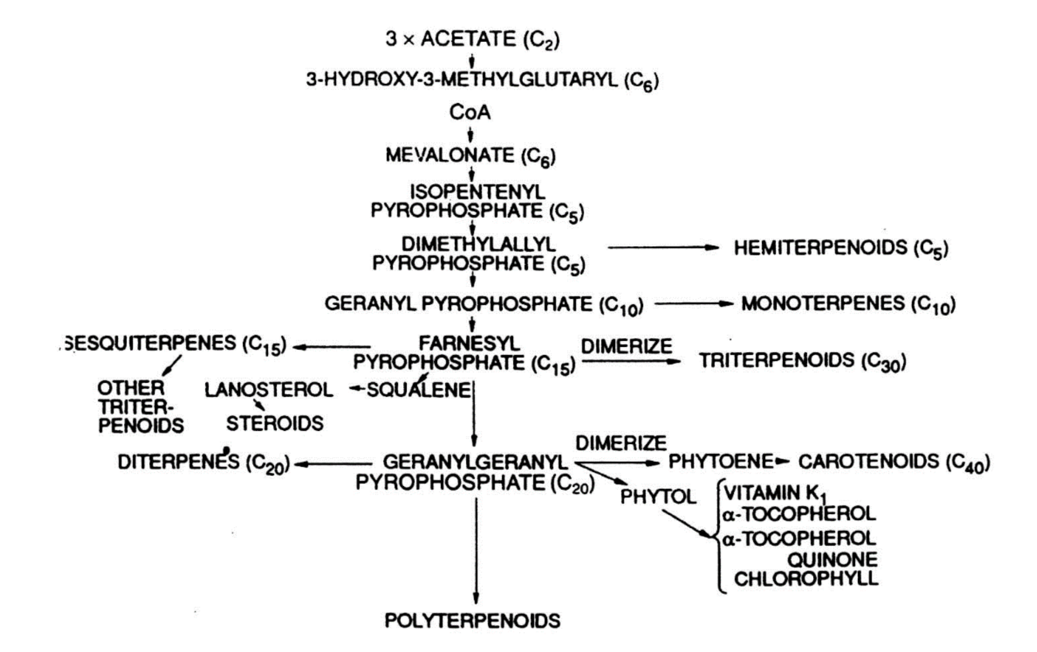
تبين أشكال (14-2)، و (14-3)، و (14-4) مسارات تمثيل بعض مركبات الأيض الثانوية (عن Panda & Khush 1995).



شكل (14-2): المسارات الرئيسية لتمثيل مركبات الأيض الثانوية.



شكل (14-3): Acetyl coenzyme A كبادئ لمركبات الأيض الأولية والثانوية.



شكل (14-4): مسـارات تمثيل التربينويدات terpenoids في الأنسجة الخضراء.

الأهمية التطورية لمركبات الأيض الثانوية

إذا كانت النباتات قد طورت نظامًا دفاعيًّا قويًّا من مركبات الأيض الثانوية، فلماذا إذًا تتغذىعليها الحشرات؟. إن الإجابة على هذا السؤال تكمن فيما حدث فى النباتات من تطور، وفيما حدث فى الحشرات من تطور مضاد؛ حيث نجد حالات كثيرة طَّورت فيها الحشرات أنظمة لتجنب الآثار الضارة لمركبات الأيض الثانوية السامة؛ بتحويلها إلى مركبات أخرى عديمة السمية؛ فضلاً عن إمكان استفادة الحشرة من تلك المركبات الأخرى كمصدر لعناصر معينة فى غذائها. وبتلك الطريقة لا تجد تلك الحشرات منافسًا لها على هذا النبات، فتتكاثر وتزداد أعدادها على حساب الحشرات الأخرى التى لا تتوفر لديها تلك القدرة.

ومن أمثلة الحشرات التى تستفيد من مركبات الأيض الثانوية – السامٌة لغيرها – ما يلى:

1 – فى أمريكا الجنوبية تعد الخنفساء **Caryedes brasilienis** هى الحشرة الوحيدة التى يمكنها إصابة بذور النبات البقولى **Dioclea megacarpa** التى تحتوى على كميات كبيرة من الحامض الأمينى (غير البروتينى) كانافانين **L-canavanine** الذى يعد شبيه التماثل مع الحامض الأمينى **arginine**؛ ومن ثم يحل محله عند تمثيل البروتينات فى الكائنات الأخرى غير هذا النبات (كالإنسان والحيوان والحشرات)؛ الأمر الذى يكون له نتائج كارثية على تلك الكائنات، إلاّ أن يرقات تلك الحشرة لديها عديد من الإنزيمات التى يمكنها تحليل الكانافانين سريعًا؛ لتنتج منه يوريا فى البداية، ثم تقوم بتحويل اليوريا إلى أمونيا؛ لتستفيد منها كمصدر للنيتروجين تستخدمه فى تمثيل حاجتها من الأحماض الأمينية.

2 - تعمل المركبات الدفاعية – أحيانًا – كجاذبات تغذية للحشرات، ومن أمثلة ذلك يرقات فراشة الكرنب التى لا يمكنها التغذية على بيئة صناعية إلا إذا أضيفت إليها الجلوكوسينولات، التى تتواجد طبيعيًّا فى نباتات العائلة الصليبية.

3 - تعتبر حشيشة اللبن هى الغذاء الوحيد ليرقات فراشة الملكة Monarch butterfly. تحتوى تلك الحشيشة على مركبات جلوكوسيدية ضارة بالقلب toxic cardiac glycosides ومرة الطعم (هى الـ cardenolides). وعندما تتغذى اليرقات على أوراق نبات حشيشة اللبن فإنها تقوم بتخزين تلك المركبات السامة فى أجسامها؛ لتظهر فى الحشرات الكاملة (الفراشات الضخمة الحجم). وعندما يتغذى طائر الـ blue jay على تلك الفراشات فإنه سريعًا ما يتقيأ؛ ولا يعود ثانية للتغذية على تلك الفراشات (عن Chrispeels & Sadava 2003).

التربينويدات (أو التربينات)

تبعًا للنظريات الكيميائية لقدامى الإغريق فإن كل المادة كانت تتكون من أربعة عناصر أساسية، هى التراب (الثرى)، والهواء، والنار، والماء، وقد أضاف إليها الفيثاغوريين Phythagoreans وأرسطو عنصرًا خامسًا هو الإثير ether الذى افترضوا دخوله فى تكوين الأجسام السماوية. وأثناء بحثهم عن هذا العنصر الخامس قام الكيميائيون بدراسات موسعة على الزيوت الطيارة بالأعشاب ونباتات التوابل، وهى التى مازال يطلق عليها – إلى الآن – اسم الزيوت الأساسية essential oils أو الزيوت العطرية، وهى التى يدخل فى تركيبها عديد من التربينات terpenoids. ونظرًا لأن جميعها تنشأ من وحدات isoprene (وهى C5)؛ لذا .. فإنها تعرف - كذلك - باسم الإيزوبرينويدات isoprenoids. ويبين جدول (14-19) الأقسام الرئيسية للتربينويدات التى توجد فى النباتات.

جدول (14-19): الأقسام الرئيسية للتربينويدات terpenoids التى توجد فى النباتات.

القسم	عدد ذرات الكربون	المركب الأساسى	الاسم المختصر
Hemiterpenoids	5	Isopentenyl pyrophosphate	IPP
Monoterpenoids	10	Geranyl pyrophosphate	GPP
Sequiterpenoids	15	Farnesyl pyrophosphate	FPP
Diterpenoids	20	Geranly geranyl pyrophosphate	GGPP
Sesterpenoids	25	Geranyl farnesyl pyrophosphate	GFPP
Triterpenoids	30	Squalene	
Tetraterpenoids	40	Phytoene	
Polyprenols	60-100	Geranyl pyrophosphate and IPPs	
Polyterpenes	40>	Geranyl pyrophosphate and IPPs	

تعد التربينات قسمًا من الدهون تتكون وحداتها البنائية من جزيئات تحتوى على خمس ذرات كربون تعرف باسم isoprenes. تحتوى جزيئات التربينات على 2، أو 4، أو 6، أو 8 من وحدات الـ isoprenes، أو أكثر من هذا العدد. وغالبًا ما يتم تمثيل التربينات الصغيرة وإفرازها بواسطة الشعيرات على طبقة البشرة فى الأوراق والسيقان؛ وبذا .. فهى تُعلن سميتها للحشرات التى قد توجد فى محيطها.

ينتشر تواجد التربينويدات انتشارًا واسعًا فى كل المملكة النباتية، وتمتلك جميع النباتات الخضراء القدرة على إنتاج التربينويدات ذات التراكيب المستقيمة **linear**، مثل الفيتول **phytol**. ويبدو أن جميع النباتات تحتوى على التربينويدات التى تتكون من أكثر من خمس وحدات **isoprene**، بينما ينحصر تواجد التربينويدات الأقل تعقيدًا (**C10-C25**) - أساسًا - فى رتبة **Tracheophyta**، على الرغم من تواجد الـ **sesquiterpenoids** على نطاق واسع فى الطحالب والفطريات.

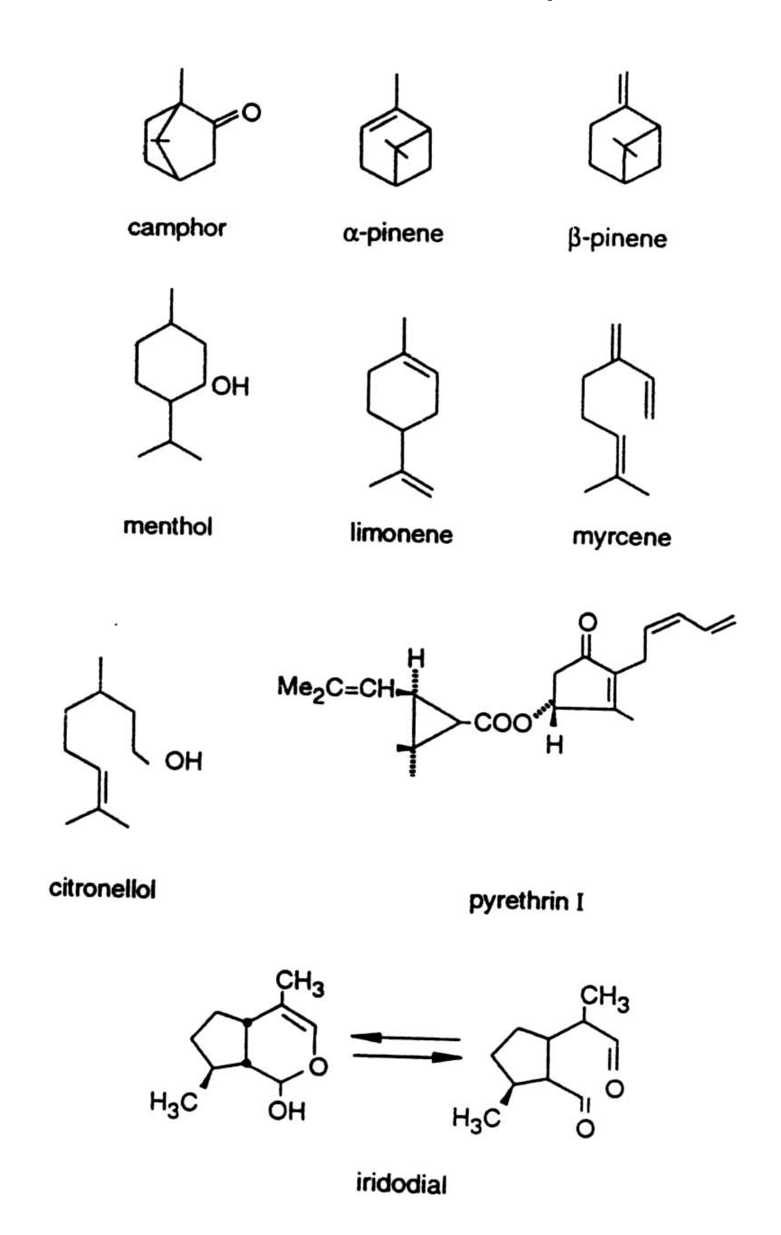
تتواجد الـ **monoterpenoids** (شكل 14-5) فى الزيوت الأساسية للنباتات، ولقد عُزِل أكثر من 1000 نوع منها، وأظهر بعضها نشاطًا مضادًا للحشرات؛ بما يعنى أنها تلعب دورًا فى الحماية الطبيعية للنباتات من الإصابات الحشرية. وقد تتعارض الـ **monoterpenoids** مع الوظائف الأساسية الأيضية والكيميائية الحيوية والفسيولوجية والسلوكية للحشرات. وبينما يُظهر بعضها سمية حادة، فإن بعضها الآخر يعد طاردًا، أو جاذبًا، أو مضادًا للتغذية، كما يؤثر البعض الآخر منها على نموات الحشرات وتطورها وتكاثرها (عن **Sadasivam & Thayumanavan 1995**).

ومن بين التأثيرات التى نُسبت إلى التربينويدات، ما يلى:

1 - استعمل كلا من زيت الكافور وزيت السترونيللا **citronella** تجاريًا كطاردين للحشرات، علمًا بأن زيت الكافور يتكون فى معظمه (70-85%) من الزيوت الطاردة (**1,8-cineole**) الفعالة ضد البعوض والصرصار الأمريكى.

2 - تعد بعض التربينويدات طاردة لحشرات معينة وجاذبة لحشرات أخرى، وقد يستفاد من ذلك فى طرد الحشرات الضارة وجذب النافعة مثل نحل العسل والأعداء الطبيعية؛ فمثلا .. أمكن عزل ثلاثة تربينويدات من الصنوبر الاسكتلندى كانت جاذبة للحشرة **Hylobius abietis** وطاردة للسوس **weevil**.

3 - مكافحة الحشرات.



شكل (14-5): التركيب البنائى لبعض الـ monoterpenoids (عن Panda & Kush 1995).

ومن بين التربينات التى تلعب دورًا هامًّا فى وقاية النباتات، ما يلى:

1 - البيرثرينات Pyrethrins:

تُنتج البيرثرينات فى أوراق وأزهار الأقحوان chrysanthemum والنباتات الأخرى التابعة للجنس Chrysanthemum، وهى مركبات شديدة السمية للحشرات، دونما أى تأثير يذكر على الثدييات.

3 – تؤثر البيروثرويدات pyrethroids – وهى مجموعة من إسترات الـ monoterpene – على الجهاز العصبى للحشرات؛ مسببة نشاطًا زائدًا بها، وحركة غير متوازنة، وشلل فى نهاية الأمر، ويُنتج نبات البيرثرم pyrethrum فى أزهاره الجافة مجموعة من البيرثرينات pyrethrins بنسبة 1.3%)، ويعرف هذا النبات باسم Tanacetum cinerariifolium (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

2 - الاستيرويدات steroids:

تحتوى بعض النباتات على الاستيرويد: phytoecdysones، وهو مركب يماثل هرمون الانسلاخ الحشرى α-ecdysone فى تأثيره؛ حيث لا يحدث انسلاخ طبيعى فى يرقات الحشرات التى تتغذى على النباتات التى تحتوى على ذلك الاستيرويد؛ ومن ثم فهى تموت.

3 - الكاردينوليدات cardenolides:

الكاردينوليدات مركبات شديدة السمية تتكون من تربين وسكر مرتبط به، ويطلق عليها - كذلك - اسم cardiac glycosides، وهى تستخدم – فى جرعات صغيرة – كدواء للملايين من مرضى القلب، ولكنها شديدة السمية فى الجرعات الكبيرة.

4 - السابونينات saponins:

تعد السابونينات (شكل 14-6) من المركبات الأخرى التى تحتوى على جزئ تربين وجزئ سكر، وهى تعد من المنظفات الجيدة جدًّا، كما أنها سامة للثدييات، لأنها تصل إلى جهازها الدروى وتؤدى إلى فتق خلايا الدم الحمراء.

5 - الجوسيبول gossypol:

يُنتج الجوسيبول (شكل 14-7) فى القطن ويفيد فى حمايته من الحشرات، كما وجد أنه يفيد فى منع الحمل فى الإنسان إذا ما استخدم بالجرعة المناسبة (عن Chrispeels & Sadava 2003).

diosgenin

β-amyrin

شكل (14-6): التركيب الكيميائى لإثنين من السابونينات.

polygodial

alantolactone

warburganal

gossypol

heliocide H_2

شكل (14-7): التركيب الكيميائى لبعض الـ sesquiterpenoids، ومنها الجوسيبول gossypol (عن Panda & kush 1995).

الفينولات

تتكون الوحدات البنائية للفينولات من حلقات تتكون كل منها من ست ذرات كربون تتصل بها مجموعة أيدروكسيل (شكل 14-8)، وهى تعد من المضادات الميكروبية القوية.

كذلك تعد التانينات tanins من الفينولات البوليمرية، وهى تستعمل فى أغراض الدباغة؛ لأنها تجعل جلد الذبيحة غير منفذ للميكروبات التى يمكن أن تحلله، كما أنها تتفاعل مع كل أنواع البروتينات؛ لتجعلها أقل قابلية للهضم؛ ومن ثم فهى تردع أو تثنى آكلات الأعشاب عن الاقتتات على النباتات الغنية بها. وعلى الرغم من عدم سمية التانينات بصورة مباشرة فإنها تكسب الأوراق طعما لاذعًا غير مقبول.

ومن الفينولات البوليميرية الدفاعية الهامة الأخرى اللجنين legnin، وهى مادة توجد فى الجدر الخلوية للنسيج الوعائى فى النباتات، وهو - على خلاف السيليلوز - مركب غير منفذ للماء. تقوم النباتات - لدى إصابتها بمسببات الأمراض الفطرية والبكتيرية - بإفراز الفينولات بكثرة، وهى التى يتكون منها اللجنين؛ حيث يؤدى تراكم الفينولات السامة واللجنين المدعم للأوعية إلى حماية النباتات من الإصابة (عن Chrispeels & Sadava 2003).

إن الفينولات مجموعة كبيرة جدًا من المركبات الكيميائية النباتية الهامة، وجميعها تتكون من حلقات عطرية تحمل أيدروكسيل وبها مشتقات فعّالة مثل: الإسترات، ومثيل الإسترات، والجلوكوسيدات. وتلعب مشتقات الفينولات وبوليمرات الفينولات أدوارًا متباينة فى النباتات؛ فهى - مثلاً - تشكل مادة هامة لدعم الخلايا، حيث تشكل المركبات البوليمرية، مثل اللجنينات، والسيوبرينات، والكيوتينات جزءًا أساسيًا من تركيب الجدر الخلوية، وتمثل دعمًا فيزيائيًا للخلايا وحاجزًا أمام اجتياح المسببات المرضية لها. وتعد اللجنينات ثانى أكثر المركبات العضوية تواجدًا على سطح الأرض؛ حيث تكون الجانب الأكبر من السيقان الخشبية، وبدونها لا يمكن انتقال الماء أو الغذاء فى النبات.

Isoflavone
(Genistein)

Isoflavanone
(Neotenone)

Rotenoid
(Rotenone)

Pterocarpan
(Glyceollin)

Isoflavan
(Licoricidin)

Coumestan
(Medicagol)

شكل (14-8): التركيب الكيميائى لست مركبات تمثل ست مجموعات رئيسية من الفينولات الأيزوفلافونية isoflavonoids (عن Panda & Kush 1995).

ومن بين الفينولات الواسعة الانتشار الأخرى: الصبغات الأنثوسيانينية، والفلافونات (وهى التى تكسب الأزهار والثمار ألوانها المميزة وتجذب الحشرات إليها؛ بما يساعد فى التلقيح وانتشار البذور، كما أن الفلافونات التى توجد فى نسيج البشرة تمتص الأشعة فوق البنفسيجية وتحمى النباتات منها)، والأحماض الفينولية، والتانينات (وهى التى توجد عند الأسطح النباتية وتساعد فى إبعاد المتطفلات عنها)، كما تتكون فينولات ذات وزن جزيئى منخفض - تعرف باسم الفيتو ألاكسينات - لدى تعرض النباتات للإصابة الميكروبية، حيث تعمل على حمايتها من استمرار تلك الإصابات.

يبين جدول (14-20) الأقسام الرئيسية للفينولات النباتية، وهى تقسم تبعًا لعدد ذرات الكربون التى يحتويها هيكلها الأساسى.

جدول (14-20): الأقسام الرئيسية للفينولات النباتية (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

القسم	عدد ذرات الكربون	الهيكل الكربونى الأساسى	أمثلة
Simple phenols	6	C6	Catechol, hydroquinone
			Phloroglucinol
Acetophenones	8	C6-C2	4-hydroxyacetophenone
Phenylacetic acid			P-Hydroxyphenylacetate
Hydroxycinnamates	9	C6-C4	Caffeic, ferulic
Coumarins	9	C6-C3	Umbelliferone, esculetin
Isocoumarins	9	C6-C3	Bergenin
Chromones	9	C6-C3	Eugenin
Hydroxybenzoates	7	C6-C1	Salicylic, gallic
Naphthoquinones	10	C6-C3	Juglone, plumbagin
Xanthones	13	C6-C1-C6	Mangiferin
Stilbenes	14	C6-C2-C6	Resveratrol

Emodin	C6-C2-C6	14	Anthraquinones
Cyanidin	C6-C3-C6	15	Flavonoids
Genistein	C6-C3-C6	15	Isoflavonoids
Pinoresinol	(C6-C3)2	18	Lignans
Amentoflavone	(C6-C3-C6)2	30	Biflavonoids
Gallontannins	(C6-C1)n: Glc	n	Hydrolyzable tannins
Catechin polymers	(C6-C3-C6)n	n	Condensed tannins
Guaiacyl lignins	(C6-C3)n	n	Lignins
	(C6)n		Catechol melanins

إن المجموعة الوحيدة من الفينولات النباتية التى تعرف بسميتها الشديدة لعديد من الحشرات هى الروتينونات التى تؤسس على الأيزوفلافونات isoflavonoid-based rotenoids. وبالمقارنة فإن بعض الفينولات الجلوكوسيدية تعد جاذبة أو منشطة للحشرات.

مركبات تجتوى على النيتروجين

تحتوى المجموعة الثالثة للمركبات الكيميائية النباتية الدفاعية على عنصر النيتروجين فى تركيبها، ومن أمثلتها ما يلى:

1 - الجلوكوسيدات السيانوجينية

تعد الجلوكوسيدات السيانوجينية cyanogenic glycosides مركبات أيض ثانوية نيتروجينية. تتكون هذه المركبات فى السيتوبلازم ولكنها تخزن فى الفجوات العصارية. أما الإنزيمات التى تحلل الجلوكوسيدات السيانوجينية - وهى الـ β-glucosidase، والـ hydroxynitrile lyase - فهى توجد فى خلايا الميزوفيل بمأمن من الاختلاط مع الجلوكوسيدات السيانوجينية، وعندما يُضار النسيج النباتى بفعل الحشرات فإن الإنزيمات المحللة لها تختلط بها؛ مما يؤدى إلى انطلاق السيانيد cyanide كوسيلة دفاعية.

يُعرف أكثر من 75 نوعًا من الجلوكوسيدات السيانوجينية، ويقدر عدد النباتات المنتجة لها ما بين 3000 و 12000 نوع، منها عديد من الأنواع المحصولية الهامة، مثل: السورجم واللوز وفاصوليا الليما والكاسافا. كذلك فإن عديدًا من الأنواع البكتيرية والفطرية تعد سيانوجينية.

عزلت الجلوكوسيدات السيانوجينية – بالفعل – من 2650 نوعًا نباتيًّا تنتمى إلى 550 جنسًا و 130 عائلة، وهى تتضمن نباتات من السراخس، ومعراة البذور، وذوات الفلقة الواحدة، وذوات الفلقتين، إلاّ أن المركبات المسئولة عن إنتاج الـ HCN لم تعرف على وجه التحديد سوى فى 475 نوعًا نباتيًّا. ومن أهم العائلات النباتية التى تنتشر فيها الجلوكوسيدات السيانوجينية: القلقاسية، والمركبة، والبقولية، والوردية، والنجيلية، و Euphorbiaceae. وتظهر فى جدول (14–21) قائمة بأهم الأنواع النباتية المنتجة للجلوكوسيدات السيانوجينية، بينما يتضمن جدول (14–22) تقسيمًا للجلوكوسيدات السيانيوجينية على أساس المركبات البادئة لها وفى أى العائلات تتواجد. ويبين شكل (14–9) التركيب البنائى لبعض الجلوكوسيدات السيانوجينية الهامة.

جدول (14-21): الأنواع النباتية المستعملة كغذاء والتى تحتوى على جلوكوسيدات سيانوجينية.

المحصول	الاسم العلمى	الجلوكوسيدات السيانوجينية
القمح	**Triticum aestivum**	**Dhurrin**
	T. monococcum	**Linamarin, lotaustralin, epilotaustralin**
السورجم	**Sorghum bicolor**	**Dhurrin**
الكاسافا	**Manicot esculenta**	**Linamarin, lotaustralin**
فاصوليا الليما	**Phaseolus lunatus**	**Linamarin, lotaustralin**
الفاصوليا	**P. vulgaris**	**Linamarin, lotaustralin**
الراجى Ragi	**Elusine coracana**	**Triglochinin**
الشعير	**Hordeum vulgare**	**Epiheterodendrin**
الشوفان	**Avena sativa**	**Linamarin**
الراى	**Secale cereale**	**Dhurrin**
التفاح	**Malus pimila**	**Amygdalin prunasin**
القلقاس	**Colocasia esculenta**	**Triglochinin**
اللوز	**Prunus dulcis**	**Amygdalin**
الخوخ	**P. persica**	**Amygdalin**
الشيرى الحلو	**P. avium**	**Amygdalin, prunasin**
الشيرى الحامض	**P. cerasus**	**Amygdalin, prunasin**
الباباظ	**Carica papaya**	**Tetraphyllin, prunasin**
	Passiflora edulis	**Prunasin**
السبوتة	**Pouteria sapota**	**Lucumin**

الغاب	Bombusa vulgaris	Taxiphyllin
القلقاس العملاق	Alocasia macrorhiza	Isotriglochinin, triglochinin

جدول (14-22): الجلوكوسيدات السيانوجينية مقسمة حسب المركبات البادئة لها (عن 1995 Sadasivam & Thayumanavan).

المركب البادئ	الجلوكوسيد السيانوجينى	العائلة النباتية
Phenylalanine	1. Amygdalin	Rosaceae
	2. Prunasin	Compositae, Leguminosae,
		Caprifoliaceae, Myrtaceae,
		Rosaceae
	3. Samunigrin	Caprifoliaceae, Leguminosae
	4. Lucumin	Sapotaceae
	5. Vicianin	Leguminosae, Polypodiaceae,
		Fabaceae
	6. Epilucumin	Asteraceae
	7. Perilla glycoside	Lamiaceae

Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae	**8. Anthemis glycoside A**	
Asteraceae, Fabaceae, Rosaceae	**9. Anthemis glycoside B**	
Leguminosae, Liliaceae	**10. Holacalin B**	
Caprifoliaceae, Rutaceae	**11. Zierin**	
Gramineae, Proteaceae	**1. Dhurrin**	**Tyrosine**
Berberidaceae	**2. Nandinin**	
Araceae, Liliaceae,	**3. Triglochinin**	
Magnoliaceae, Platanaceae		
Graminae, Taxaceae,	**4. Taxiphyllin**	
Euphorbiaceae, Cupressaceae		
Leguminosae, Berberidaceae	**5. 4-Gluosyloxymandelo-nitrile**	
Proteaceae, Ranunculaceae	**6. Proteacin**	
Sapindaceae	**1. Cardiospermin**	**Leucine**
Leguminosae, Sapindaceae	**2. Heterodendrin**	
Sapindaceae, Poaceae	**3. Epiheterodendrin**	

	4. 3-Hydroxyheterodendrin	Sapindaceae
	5. Proacacipetalin	Leguminosae
	6. Epiproacacipetalin	Leguminosae
Isoleucine, valine	1. Linamarin	Compositae, Euphorbiaceae,
		Leguminosae, Liliaceae,
		Papaveraceae
	2. Lotaustralin	Compositae, Euphorbiaceae,
		Liliaceae, Papaveraceae
	3. Epilotaustralin	Poaceae
	4. Linustatin	Passifloraceae

تابع جدول (14-22).

المركب البادئ	الجلوكوسيد السيانوجينى	العائلة النباتية
	5. Neolinustatin	Passifloraceae
	6. Sarmentosin epoxide	Crassulaceae
2-(2-Cyclopentenyl) glycine	1. Tetraphyllin A	Passifloraceae
	2. Tetraphyllin B	Passifloraceae

Passifloraceae, Turneraceae	**3. Tetraphyllin B sulfate**	
Flacourtiaceae	**4. Tetraktophyllin**	
Flacourtiaceae	**5. Eqivolkenin**	
Flacourtiaceae	**6. Volkenin**	
Passifloraceae	**7. Deidaclin**	
Flacourtiaceae	**8.8. Gynocardin**	
Flacourtiaceae	**9.9. Passisuberosin**	
Flacourtiaceae	**10. 6'-O-rhamnopyranosyl tetraktophyllin**	
Passifloraceae	**11. Passicapsin**	
Passifloraceae	**12. Passibiflorin**	
Passifloraceae	**13. Passitrifasciatin**	
Sapindaceae, Boraginaceae	**1. 1-Cyano-2-methyl-prop-2-en-1-ol ester**	**Leucine and fatty acids**
Sapindaceae, Boraginaceae	**2. 1-Cyano-2-hydroxymethyl prop-2-en-1-ol diester**	
Euphorbiaceae	**1. Acalypin**	**Nicotinic acid**

Nitroacids, nitroalcohols	1. 3-Nitropropionic acid	Fabaceae
	2. Cibarian	Violaceae
	3. Coronarian	Malpighiaceae
Nitrile glycoside	1. Simmondsin	Crassulaceae
	2. Bauhinin	Simmondsiaceae
	3. Lithosperoside	Simmondsiaceae, Aquifoliaceae

إن من أهم الأدوار البيولوجية المحتملة لتواجد المركبات السيانوجية فى بعض النباتات إسهامها فى الدفاع ضد المسببات المرضية والحشرية، على الرغم من أن كلا من النباتات والحيوانات لديها القدرة على تجريد السيانيد من سميته؛ بما يعنى أن تواجد الجلوكوسيدات السيانوجينية فى النباتات لا يكون بالضرورة ضارًا بالحيوانات التى تقتات عليها، وعلى سبيل المثال .. فإن يرقات Spodoptera eridania تفضل التغذية على النباتات المحتوية على الجلوكوسيدات السيانوجينية، ويكون نموها أفضل عندما يحتوى غذاءها على السيانيد، إلاّ أن ذلك الأمر يختلف من نوع حشرى لأخر؛ فكثير من الحشرات تضار من تواجد تلك المركبات فى النباتات.

General structure

Dhurrin

Triglochinin

Prunasin

Amygdalin

Linamarin

Lotaustralin

Gynocardin

1-Cyano-2-methyl-prop-2-en-1-ol ester

شكل (14-9): التركيب الكيميائى لبعض الجلوكوسيدات السيانوجينية الهامة.

ينطلق سيانيد الأيدروجين من النباتات المحتوية على الجلوكوسيدات السيانوجينية بفعل إنزيمين يتوفران - عادة - فى تلك النباتات، هما: β-glucosidase، و hydroxynitrile lyase (شكل 14-10)، هذا .. علمًا بأن سيانيد الأيدروجين يعد مركبًا شديد السمية، نظرًا لأنه يوقف نشاط الانزيم cytochrome oxidase وإنزيمات التنفس الأخرى،

ومن جانب آخر فإن الجلوكوسيدات السيانوجينية قد تنفر الحشرة من التغذية أو تكون محفزة لها على الغذاء، كما قد يكون بعضها محفزًا على وضع الحشرات لبيضها، ويتوقف الأمر على النوع الحشرى (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

GlcO
C ≡N
C
R'
R
β-glucosidase
HO
Cyanohydrin
(hydroxynitrile)
Hydroxynitrile lyase
O
HCN +
Hydrogen cyanide
Ketone or aldehyde

شكل (14-10): تحلل الجلوكوسيدات السيانوجينية إنزيميًّا إلى سيانيد الأيدروجين.

2 - الجلوكوسينولات (أو جلوكوسيدات زيت الخردل)

تُعد الجلوكوسينولات glucosinolates - وهى التى يطلق عليها كذلك اسم جلوكوسيدات زيت الخردل mustard oil glucosides - قريبة من الجلوكوسيدات السيانوجينية، وتُنَشَّط بذات الطريقة. ففى النباتات .. يخزن المركب الجلوكوسيدى والإنزيم الذى يعمل عليه لإطلاق المادة النشطة فى حجيرات خلوية cellular compartments مختلفة، ويلزم تمزيق الخلايا لكى يختلط الإنزيم بالمركب الجلوكوسيدى وتُنتَج المادة الفعالة (عن Chrispeels & Sadava 2003).

عزلت الجلوكوسينولات glucosinolates لأول مرة منذ أكثر من 100 عام من بذور المسترد الأبيض Sinapis alba وأعطيت الاسم سينالبين sinalbin. ومازالت معظم المركبات التى من هذا الطراز تعرف بأسماء غير علمية مثل: السينالبين والسنجرين singrin، والأخير مركب سبق عزله من بذور المسترد الأسود Brassica nigra. وفى محاولة لوضع أساس علمى لتلك الأسماء اقترح استخدام البادئ gluco قبل جزء من الاسم اللاتينى للنوع النباتى الذى عزل منه المركب لأول مرة، مثل glucobrassicin، و glucoiberin.

عند تحلل الجلوكوسينولات فإنها تعطى D-glucose وكبريتات، و أجلوكون aglucone غير ثابت لا يلبث أن يتحول إلى أيزو ثيوسيانيت isothiocyanate (وهو الذى يعرف بزيت المسترد) كمنتج أساسى، أو ثيوسيانيت thiocyanate، أو نيتريل nitrile (وهو سيانيد عضوى organic cyanide) كمنتجات ثانوية. وبسبب تواجد كلا من الجلوكوز ومجموعة الكبريتات فإن الجلوكوسينولات ليست متطايرة؛ هذا .. بينما نجد أن الأيزوسيانينات تكون عموما متطايرة وشديدة النشاط كيميائيًّا. هذا .. ولقد عزل أكثر من 100 نوع من الجلوكوسينولات من النباتات ولجميعها تراكيب متشابهة (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

يكثر تواجد الجلوكوسينولات glucosinolates فى ذوات الفلقتين، وبخاصة فى رتبة Capparals، ولقد وجدت فى جميع أنواع العائلة الصليبية Cruciferae، وكذلك فى جميع الأنواع التى درست من العائلات Capparaceae، و Tovariaceae، و Resedaceae، و Moringaceae.

تتباين كثيراً أنواع الجلوكوسينولات التى تتواجد فى مختلف الأنواع النباتية، علمًا بأن بعض الأنواع النباتية تحتوى على عدة أنواع من الجلوكوسينولات، وتتباين الأنواع النباتية - كذلك - فى أنواع البادئات التى تتكون منها الجلوكوسينولات، وفى تركيز تلك الجلوكوسينولات فيها،

وفى أنواع الجلوكوسينولات التى تتواجد فى مختلف الأجزاء النباتية للنوع النباتى الواحد. وبصورة عامة .. فإن تركيز الجلوكوسينولات يكون حوالى 0.1% أو أقل من ذلك فى الأوراق - على أساس الوزن الطازج - بينما قد يصل تركيزها إلى أكثر من 10% فى البذور على أساس الوزن الجاف، ويكون مركز تراكم الجلوكوسينولات فى البذور فى الإندوسبرم؛ أما فى جذور فجل الحصان فإنها تتراكم فى الفجوات العصارية.

وتقسم الجلوكوسينولات - حسب تركيبها البنائى - إلى ثلاث فئات رئيسية، هى (جدول 14-23):

أ - الأليفاتية aliphatic.

ب - العطرية aromatic.

جـ - الإندولية indole.

ويبين شكل (14-11) التركيب البنائى لبعض أنواع الجلوكوسينولات.

جدول (14-23): تقسيم الجلوكوسينولات glucosinolates (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

الطراز البنائى	الاسم الكيميائى
أولاً: الأليفاتية Aliphatic	
Saturated without functional group	Methyl GS
With double bond	Allyl GS, but-3-enyl GS
With alcohol group	1-Methyl-2-hydroxyethyl GS

	2-Hydroxypent-4-enyl GS
With keto group	4-Oxoheptyl GS
With methylthio group	3-Methylthiopropyl GS
	4-Methylthiobutyl GS
With methylsulfinyl group	3-Methylsulfinylpropyl GS
With methylsulfonyl With keto group	3- Methylsulfonylpropyl GS
	4- Methylsulfonylbutyl GS
With esterified carboxyl group	3- Methyloxycarbonylpropyl GS

تابع جدول (14-23).

الطراز البنائى	الاسم الكيميائى
ثانيًا: العطرية Aromatic	
Without functional group	Benzyl GS
	2-Phenylethyl GS
With phenol groups, free methylated, or glycosylated	p-Hydroxybenzyl GS
With alcohol group	2-Hydroxy-2-phenylethyl GS
ثالثًا: الإندولية Indole	
Without functional group	Indol-3-ylmethyl GS

1-Methoxyindol-3-ylmethyl GS	**With methoxyl group**
4-Methoxyindol-3-ylmethyl GS	
4-Methoxyindol-3-ylmethyl GS	**With hydroxyl group**
N-Sulfoindol-3-ylmethyl GS	**With sulfonyl group**

GS = glucosinolate

General structure

Methyl glucosinolate (Glucocapparin)

Allyl glucosinolate (Sinigrin)

3-Methylthiopropyl glucosinolate (Glucoibervirin)

Benzyl glucosinolate (Glucotropaeolin)

3-Indolylmethyl glucosinlate (Glucobrassicin)

4-Hydroxybenzyl glucosinolate (Sinalbin)

شكل (14-11): التركيب البنائى لبعض أنواع الجلوكوسينولات.

إن الجلوكوسينولات ذاتها ليست سامة، ولكن نواتج تحللها الإنزيمية تظهر مدى واسعًا من النشاط الفسيولوجى (شكل 14-12). ومن بين أهم الإنزيمات التى تعمل على تحلل الجلوكوسينولات: الميروزينيز myrosinase (أو الثيوجلوكوسيديز thioglucosidase)؛ لينتهى الأمر بتكوين الأيزوثيوسيانيت isothiocyanate والنيتريل nitrile،والثيوسيانيت thiocyanate، ولكل منها ظروفه الخاصة التى تناسب تكوينه، خاصة ما يتعلق منها بالـ pH. هذا .. ويؤدى تجريح النسيج النباتى أو الإضرار به بأى طريقة كانت إلى اختلاط الجلوكوسينولات - التى تكون متواجدة فى الفجوات العصارية - بالميروزينيز - الذى يكون متواجدًا فيما يعرف بالـ myrosin grains - مما يؤدى إلى سرعة تحلل الجلوكوسينولات وانطلاق نواتج ذلك التحلل.

إن الجلوكوسينولات ليست متطايرة؛ وبذا .. لا يمكن للحشرات التعرف عليها إلاّ بعد ملامستها لها. أما الأيزوثيوسيانيت - وهى أهم نواتج تحلل الجلوكوسينولات - فإنها تكون متطايرة وتستجيب الحشرات لتواجدها فى البيئة. ويتوقف التأثير البيولوجى لكليهما على طبيعة السلسلة الجانبية فيهما، وعلى تركيز المركب وعلى الحشرة المعنية.

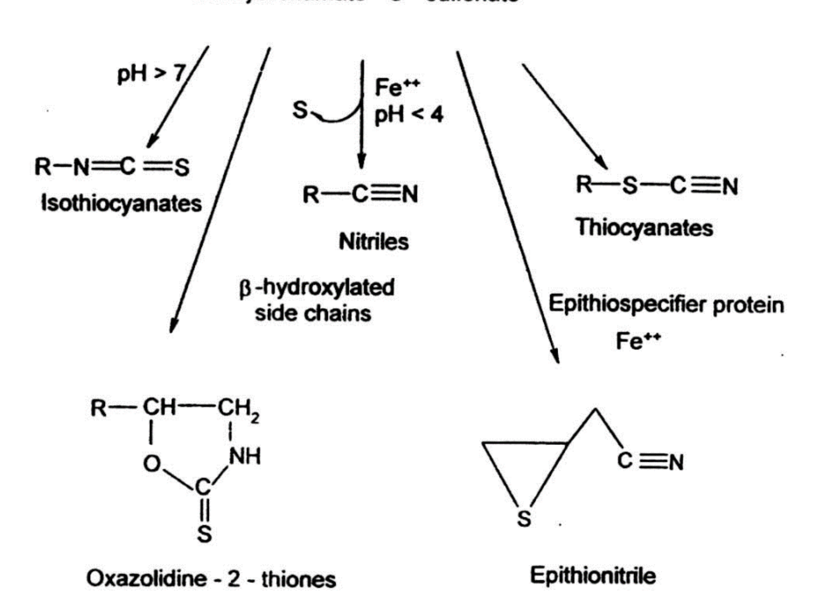
وتلعب تلك المركبات دورين سلبيين مع معظم الحشرات: فهى تعد طاردة للتغذية بفعل الرائحة النفاذة لزيت المسترد، كما أن جلوكوسيد زيت المسترد يعد سامًّا لها.

وتفيد تلك المركبات النباتات كوسائل دفاعية عامة لها ضد الحشرات، مثل: المن، ونطاطات الأعشاب.

وتتعارض الجلوكوسينولات مع وضع البيض وفقسه وفى المستقبلات الكيميائية chemoreceptors لليرقات، كما أن لها تأثيرات كبيرة على الخنافس ويرقاتها، إلاّ أنها تحفز وضع البيض، خاصة فى حشرات الصليبيات.

وإلى جانب ما تقدم بيانه، فإن الجلوكوسينولات ونواتج تحللها تتعارض من تكاثر عديد من الأنواع النيماتودية، مثل: Pratylenchus penetrans، Meloidogyne spp.، و Heterodera schachtii.

هذا .. وتتجه الدراسات نحو استخدام تقنيات الهندسة الوراثية فى محاولة زيادة محتوى أوراق بعض النباتات – مثل لفت الزيت – من الجلوكوسينولات، حتى تكون أكثر مقاومة للحشرات، مع خفض محتوى بذورها من تلك المركبات حتى تزداد صلاحيتها كعلف حيوانى بعد استخلاص الزيت منها.



شكل (14-12): نواتج تحلل الجلوكوسينولات.

3 - أحماض أمينية لا تدخل فى تكوين البروتينات

يُطلق على العشرين حامضًا أمينيًّا التى تدخل فى تركيب البروتين اسم الأحماض الأمينية البروتينية، بينما تعرف تلك التى لا تدخل فى تركيبه باسم الأحماض الأمينية غير البروتينية، ولقد تم التعرف على أكثر من 900 حامض أمينى غير بروتينى فى النباتات (شكل 14-13). وكثير من تلك الأحماض الأمينية غير البروتينية تتشابه مع الأحماض الأمينية البروتينية (شكل 14-14)، وغالبًا ما تعتبر كنظائر تركيبية لها، كما أنها غالبًا ما تنتج فى المسارات الأيضية للنبات من الأحماض الأمينية البروتينية. وتعد بعض الأحماض الأمينية غير البروتينية متماثلات (أو متشاكلات) بسيطة simple homologues للأحماض الأمينية البروتينية، ونجد فى تلك الحالات أن الأحماض الأمينية المتشاكلة لا تختلف كثيرًا عن بعضها البعض فى الوزن الجزيئى أو فى بنية التكوين conformation، إلى درجة أنها قد تصبح نظائر متماثلة؛ مما يترتب عليه أن يحل الحامض الأمينى غير البروتينى محل الحامض الأمينى البروتينى فى التفاعلات الحيوية للحشرات؛ وبذا تصبح بمثابة مضادات أو مثبطات أيضية، ومن أبرز الأمثلة على ذلك أن الحامض الأمينى غير البروتينى: L-cavanine - الذى يعد نظيرًا تركيبيًّا للحامض الأمينى arginine - يمتلك خصائص تجعله من المبيدات الحشرية (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

عندما تحصل الحشرات على الأحماض الأمينية ضمن غذائها فإن الأحماض الأمينية الشبيهة بتلك التى تلزم لتكوين البروتين تحل محل الأخيرة؛ مما يؤدى إلى تمثيل بروتينات لا تؤدى دورها بفاعلية؛ ومن ثم تموت الحشرات. وتجدر الإشارة إلى أن النباتات التى تقوم بتمثيل تلك الأحماض الأمينية يمكنها التمييز بينها وبين الأحماض الأمينية التى تلزم لتمثيل البروتينات عندما تقوم بتمثيل بروتيناتها (عن Chrispeels & Sadava 2003).

تتواجد أعداد كبيرة من الأحماض الأمينية غير البروتينية فى العائلة البقولية Leguminosae، كما تحتوى بعض نباتات العائلة القرعية Cucurbitaceae على أحماض أمينية غير بروتينية مثل -β pyrazol-1-ylalanine ومُشتقّه α-glutamyl. وتتواجد الأحماض الأمينية ذات السلاسل المتفرعة والـ cyclopropyl فى الجنسين Aesculus و Billa بالعائلة Hippocastanaceae، كما تتواجد أحماض أمينية من تلك الطرز التركيبية فى أنواع أخرى من العائلتين: Sapindaceae، و Aceraceae.

$HOOC-CH(OH)-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ — γ- Hydroxy, L-glutamic acid (Acidic)

$H_2N-C(=NH)-NH-O-(CH_2)_2-CH(NH_2)-COOH$ — Canavanine (Basic)

$H_2N-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ — Diaminobutyric acid (Basic)

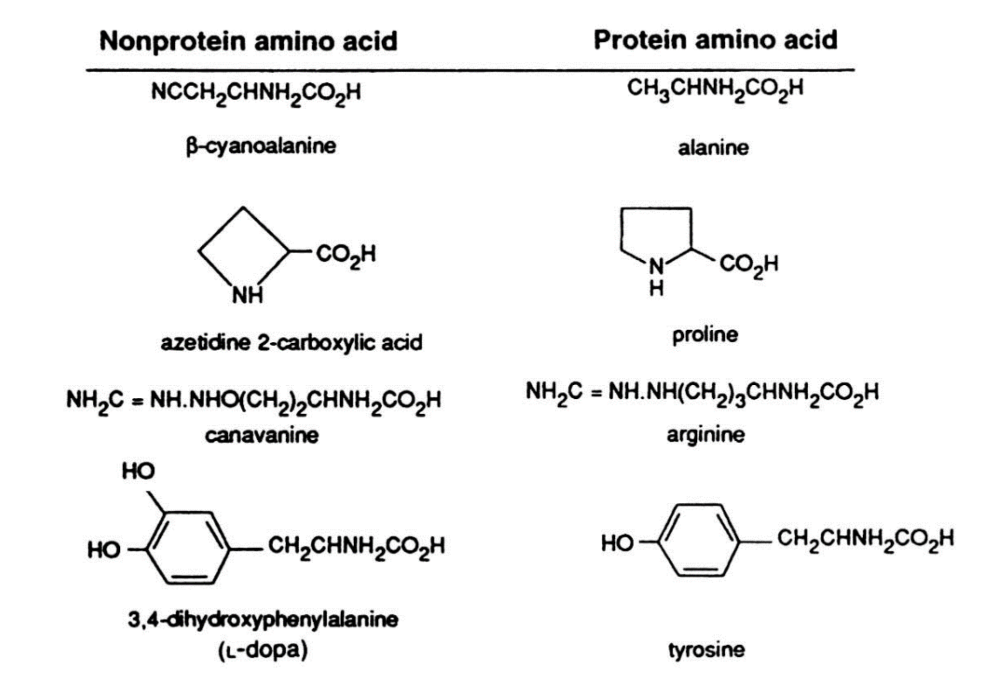
Azetidine-2-carboxylic acid (Heterocyclic)

Mimosine (Substituted heterocyclic)

3,4- Dihydroxy phenylalanine (Substituted aromatic)

Cucurbitine (Imino)

شكل (14-13): التركيب البنائى لبعض الأحماض الأمينية غير البروتينية.



شكل (14-14): بعض الأحماض الأمينية غير البروتينية السامة ونظائرها من الأحماض الأمينية البروتينية.

ومن بين الأحماض الأمينية غير البروتينية التى عُرف تأثيرها البيولوجى السام على الفقاريات ما يلى:

indospicine		**hypoglycin A**
(شكل 14-15)	**lathyrogens**	**mimosine**
هذا بالإضافة إلى الأحماض الأمينية المحتوية على السيلينيم		

كذلك عرف التأثير السام لعدد من الأحماض الأمينية غير البروتينية على الحشرات، ومن بينها ما يلى (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995):

cavanine	**cyanoalanine**
canaline	**diaminobutyric acid**
propionic acid	**β-pyrazol-1-yl-L-alanine**
mimosine	**albizziine**
3,4-dopa	

شكل (15-14): تمثيل الأحماض الأمينية غير البروتينية (من الـ lathyrogens) فى الجنس Lathyrus.

إن التركيزات العالية لعديد من الأحماض الأمينية السامة تتواجد فى بذور الأنواع النباتية المنتجة لها؛ الأمر الذى قد يُسهم فى حماية تلك الأنواع من إصابة الحشرات لبذورها. كذلك فإن تلك الأحماض الأمينية السامة تثبط نمو الأنواع المجاورة لها بعد انتشارها فى التربة من البذور، وخاصة خلال المراحل المبكرة للإنبات.

ولهذه الأحماض الأمينية السامة تراكيب بنائية مقاربة لتراكيب الأحماض الأمينية البروتينية. فعلى سبيل المثال .. يماثل كل من الـ indospicine، والـ cavaanine فى تركيبها الأرجنين arginine، كما أن للـ mimosine رائحة وتركيبًا بنائيًّا يماثل ما لكل من الفينيل آلانين phenylalanine والتيروزين tyrosine. ويعد الـ azetidine-2- carboxylic acid نظيراً للبرولين proline، والـ albizziine نظيراً للجلوتامين glutamine، والـ 2-amino-4-methylhex-enoic acid نظيراً للفينيل آلانين phenylalanine (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

4 - القلوانيات (أو أشباه القلويات)

عرفت القلوانيات alkaloids (أو أشباه القلويات) منذ عدة قرون، وهى من أكثر مركبات الأيض الثانوية تواجدًا فى النباتات، حيث يعرف أكثر من 12000 نوع منها، ويعنى مصطلح "قلوانى" أن المركب توجد به بعض القلوية، وهى مركبات شديدة التنوع فى تركيبها الكيميائى.

ونظرًا لأن القلوانيات تؤثر فى الجهاز العصبى المركزى، فإنها تستخدم فى العقاقير الطبية على نطاق واسع (مثل: المورفين morphine، والكوديين codeine، والأتروبين atropine، والإفردين epherdine)، ولكنها تستعمل كذلك كمنشطات أو منبهات (مثل الكافيين cafeine، والكوكايين cocaine، والنيكوتين nicotine).

وترجع نسبة كبيرة من حالات الموت فى قطعان الماشية إلى استهلاكها لنباتات تحتوى على أشباه قلويات. وبعض هذه المركبات قد لا تكون سامة بدرجة تؤدى إلى موت الحيوانات، ولكنها قد تضعف من قدرتها الإنجابية. ويعتبر السولانين **solanine** من أشهر أشباه القلويات، وهو يتواجد فى جميع الأجزاء الهوائية لنبات البطاطس وفى الدرنات التى تتعرض للضوء، وهو سام للإنسان.

تتواجد القلوانيات فى نحو 20% من النباتات، وتتوزع فى أكثر من 150 عائله نباتية، كما أنها تتواجد - كذلك - فى البكتيريا والفطريات ومعراة البذور والحيوانات. ومن أكثر العائلات النباتية احتواء على القلوانيات: الزنبقية والباذنجانية والنجيلية.

ويكثر تراكم القلوانيات فى أنسجة نباتية خاصة، هى: الأنسجة النشطة فى الانقسام، والبشرة، وخلايا تحت البشرة، والأنسجة الوعائية، والأنسجة اللبنية، ويكون تراكمها فى الفجوات العصارية؛ لذا .. فإنها لا تتواجد فى الخلايا الصغيرة التى تكون خلوًا من تلك الفجوات.

وتقسم القلوانيات - حسب تركيبها الكيميائى - إلى اثنتى عشرة مجموعة، كما يلى:

المجموعة	أمثلة عليها
● Pyridine and piperidine alkaloids	- Nicotine, anabasine, nicotinic acid, and trigonelline
● Tropane alkaloids	- Atropine, hyoscine, and cocaine
● Quinolizidine alkaloids	تكثر فى البقوليات
● Pyrrolizidine alkaloids	- Senecionine
● Quinoline alkaloids	- Quinine and quinidine
● Isoqinoline or benzylquinoline alkaloids	- Morphine, codeine, and berberine
● Indole alkaloids	- Reserpine, ajmaline, cinchonamine, tabersonine, vincristine, and vinblastine
● Purine alkaloids	- Caffeine and theobromine
● Phenyl alkylamines	- Ephedrine, pseudoephedrine, taxin, and, and hordenine
● Isoprenoid (terpenoid) Alkaloids	- Gentianine, actinidine, delpheline, garryfoline, triterpene, and germine

- Polyhydroxy derivatives of piperidine, pyrrolidine, indolizine, and pyrrolizidine	● Polyhydroxy alkaloids
- 2,4-dihydroxy-7-methoxy-2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-one (DIMBOA) and its desmethoxy derivative (DIBOA).	● Benzoxazinoids (hydroxamic acids)

ويبين جدول (14-24) الأحماض الأمينية البادئة precursor amino acids لتكوين بعض القلوانيات الهامة، كما يبين شكل (14-16) التركيب البنائى لبعض القلوانيات.

جدول (14-24): بادئات بعض القلوانيـات الهامة.

الحامض الأمينى البادئ	نوع الألكالويد	مثال	النبات الذى يتواجد فيه
Ornithine	Pyridine	Nicotine	Nicotiana spp.
	Tropane	Cocaine	Solanaceae
		Hyoscyamine	Datura, Atropa
	Pyrrolizidine	Heliotrine	Boraginaceae
	Pyrrolidine	Stachydrine	Medicago sativa

Gentisteae, Lupinus	**Lupanine**	**Quinolizidine**	**Lysine**
Areca catechu	**Arecoline**	**Piperidine**	**Aspartic acid**
Pilocarcarpus spp.	**Pilocarpine**	**Imidazole**	**Histidine**
Rubiaceae	**Ajmalicine,**	**Indole**	**Tryptophan**
Loganiaceae	**Nindoline**		
Cinchona	**Quinine**	**Quinoline**	
Lyphophora	**Emetine**	**Isoquinoline**	**Phenylalanine/**
Berberidaceae	**Berberine**		**tyrosine**
Papaveraceae	**Morphine**		
Graminae	**DIMBOA**	**Benzoxazinoids**	**Anthranilic acid**

Nicotine (Pyridine)

Atropine (Tropane)

Lupinine (Quinolizidine)

Heliotridine (Pyrrolizidine)

Quinine (Quinoline)

Berberine (Isoquinoline)

Harman (Indole)

Caffeine (purine)

شكل (14-16): التركيب البنائى لبعض القلوانيات.

Ephedrine (Phenyl alkylamine)

Actinidine (Monoterpenoid)

DMDP (Polyhydroxy)
(2R, 5R-Dihydroxymethyl -3R, 4R-dihydroxy pyrrolidine)

DIMBOA (Benzoxazinoid)

تابع شكل (14-16).

إن معظم القلوانيات التى تحتويها النباتات تعد طاردة للحشرات، كما أن كثيراً منها يعد معيقا لتغذية الحشرات، أو سامًّا لها، كذلك فإنها قد تثبط نمو البكتيريا.

ويبين جدول (14-25) الكيفية التى تؤثر بها بعض القلوانيات الهامة على الكائنات الحية، وذلك على المستوى الجزيئى (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

جدول (14-25): كيفية تأثير بعض القلوانيات الهامة - على المستوى الجزيئى - فى الكائنات الحية.

القلوانيات	تأثيراتها على المستوى الجزيئى
Berberine, quinine, β-carbolines	DNA/RNA intercalation
Pyrrolizidines	Alkylation of DNA/RNA
Coniine	Mutations
Lycorine, vincristine	Inhibition of DNA/RNA polymerases
Vinblastine	Microtubules/cytoskeleton

تابع جدول (14-25).

القلوانيات	تأثيراتها على المستوى الجزيئى
Quinolizidines	Inhibition of protein biosynthesis
Steroidal alkaloids	Membrane stability
Quinine aconitine	Inhibition of ion channels, carrier
Nicotine, heliotrine	Acetylcholine receptors
Cocaine	Dopamine receptors
β-Carbolines	Serotonine receptors, GABA receptors
Cocaine, β-carbolines	Transport or degradation of neurotransmitters
Tetrahydroberberine	Adenyl cyclase inhibition
Polyhydroxyalkaloids	Inhibitors of hydrolases

5 – البروتينات السامة

على خلاف جميع المركبات التى أسلفنا بيانها - وجميعها ذات وزن جزيئى منخفض - فإن النباتات تلجأ - كذلك - إلى تمثيل بروتينات سامَّة، وهى جزيئات أكثر تعقيدًا، يكفى جزئ واحد من بعضها لقتل خلية كاملة، علمًا بأن الجرام الواحد من البروتين يحتوى على 1910 جزيئًا (10 أمامها 18 صفرًا).

ومن أهم أنواع تلك البروتينات السامة اللكتينات lectins، وهى عبارة عن بروتينات يمكنها الارتباط ببروتينات أخرى فى معى الحشرة؛ مما يتعارض مع امتصاص العناصر فى الأمعاء (عن 2003 Chrispeels & Sadava).

يُعرف تواجد اللكتينات lectines فى نحو 800 نوع نباتى، منها حوالى 600 نوع من البقوليات. تلعب اللكتينات دورًا هامًّا فى دفاع النباتات ضد الآفات الحشرية، كما أنها تلعب دورًا فى كل من انتقال المركبات الكربوهيدراتية فى النبات، وإنبات البذور، والنظام المناعى النباتى، والتحكم فى نمو الخلايا، وعمليات التعرف الخاصة.

ويبين جدول (14-26) عددًا من اللكتينات النباتية السامة للحشرات وأمثلة على الحشرات التى تتأثر بها.

حدول (14-26): أمثلة على الليكتينات النباتية السامة للحشرات، والأنواع الحشرية التى تتأثر بها (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

الرتبة الحشرية	الحشرة	الليكتين السام
غمدية الأجنحة Coleoptera	Callosobruchus maculates	PHA, WGA, SNAII
		(elderberry lectin)
	Diabrotica undecimpunctata	WGA, GNA
	(Southern corn rootworm)	
حرشفية الأجنحة Lepidoptera	Ostrinia nubilalis (European corn borer)	WGA, lectin from castor and Bauhinia purpurea
	Manduca sexta	Soybean lectin
متشابهة الأجنحة Homoptera	Nilaparvata lugens (BPH)	GNA
	Nephotettix cincticeps Ish.	GNA
	(rice green leafhopper)	
	Empoasca fabae Harr.	PHA, WGA
	(potato leaftopper)	

	Acyrthosiphon pisum Harr.	ConA
	(pea aphid)	
	Myzus persicae Sulz.	GNA
	(potato aphid)	
ذات الجناحين Diptera	Lucillia cuprina Weid.	WGA, ConA
	(blowfly)	

يمكن القول أن جميع الأنواع النباتية تحتوى لكتينات lectins، تتواجد - عادة - كبروتينات من تلك التى تتواجد فى البذور، ولكنها كثيراً ما تتوزع - كذلك - على الأجزاء النباتية الأخرى، مثل الأوراق والجذور وأعضاء التخزين. هذا إلاّ أن اللكتينات ذات التأثير القاتل للحشرات لا يعرف منها سوى عدد محدود نسبيًّا، ومن بين تلك التى درست أمكن استعمال اللكتينات GNA، و AHA، و ConA، و P-lec فى عمليات التحول الوراثى، وكانت النباتات التى حولت وراثيًّا سامّة للحشرات كما المتوقع.

وعلى خلاف سموم الـ Bt المتحصل عليها من Bacillus thuringiensis، فإن اللكتينات تكسب النباتات مقاومة ضد مدى واسع من الحشرات، ولكن تأثيرها ليس كبيراً إلى الدرجة التى تسمح باستخدامها فى عمليات التحول الوراثى على النطاق التجارى. وربما كان السبب فى محدودية تأثيراتها أنها تكون مزمنة وليست حادة.

وحاليًّا .. لا يعرف من اللكتينات غير السامة للحيوانات – غير الحشرات – سوى لكتين زهرة اللبن الثلجية: GNA. ولبعض اللكتينات (كالذى يوجد فى بذور الفاصوليا الجافة: PHA) تأثيرات متلفة على التركيب الخلوى للأمعاء الدقيقة ويؤثر على البنكرياس وعلى إفراز الإنزيمات الهاضمة فى كل من الإنسان والحيوان (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

6 - مثبطات الإنزيمات

لقد طورت النباتات أنظمة دفاعية خاصة بها ضد الحشرات، ولكنها لا تكون دائمًا فعالة بدرجة كافية للحد من الأضرار بشكل مقبول، ومن بين تلك النظم الدفاعية مثبطات الإنزيمات. إن الأنواع الإنزيمية الرئيسية التى تلزم لهضم الغذاء فى الحشرات، هى: الـ proteinases (التى تختص بهضم البروتينات)، والـ amylases (التى تختص بهضم النشا)، والـ lipases (التى تختص بهضم الدهون).

وتتواجد المركبات متعددة الببتيدات polypeptides والبروتينات التى تعد مثبطة لنشاط الإنزيمات الهاضمة فى خلايا كل الكائنات الحية تقريبًا.

وتقسم مثبطات الإنزيمات إلى ثلاث فئات رئيسية، كما يلى:

1 - مثبطات الـ proteases والـ proteinases.

2 - مثبطات الـ amylases.

3 - مثبطات الـ lipases (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

أ – مثبطات البروتييز protease inhibitors:

توجد مثبطات البروتييز فى عديد من النباتات، وهى تثبط هضم البروتين فى كل من الحشرات والحيوانات الأخرى. تعرف أنواع عديدة من مثبطات البروتييز، كما تعرف أنواع عديدة – كذلك – من إنزيمات البروتييز، ويوجد تخصص كبير بين البروتينات المثبِّطة والإنزيمات المثبَّطة (عن Chrispeels & Sadava 2003).

تتواجد مثبطات الإنزيمات الهاضمة للبروتينات (proteinases أو proteases) – غالبًا – كمكون رئيسى فى النباتات فى البذور والدرنات، وبخاصة فى العائلات النجيلية، والبقولية، والباذنجانية. أما الإنزيمات الهاضمة للبروتينات التى تُثَبَّط بواسطة المثبطات النباتية فإنها تتواجد أساسًا فى الأنواع الحيوانية والبكتيرية والفطرية، وفى حالات قليلة - فقط - فى النباتات. ومعظم مثبطات البروتينيز النباتية تعد متخصصة على الـ serine endopeptidases. كذلك تعرف مثبطات نباتية قليلة لكل من: الـ metallocarboxypeptidases، والـ acid proteinases، والـ sulfhydryl proteinases، ولكن لم تعرف إلى الآن مثبطات للـ aminopeptidases. وقد كان الـ kunitz soybean trypsin inhibitor هو أول ما عزل من تلك المثبطات (من فول الصويا وضد إنزيم التربسن trypsin)، وذلك بواسطة kunitz فى عام 1946.

وكثيرًا ما يختلط المعنى بالنسبة للمصطلحين بروتينيز proteinase، و بروتييز protease، إلا أن مصطلح البروتييز protease يشير إلى كل من الـ endopeptidases والـ exopeptidases، بينما يصف مصطلح بروتينيز proteinase الـ endopeptidases فقط. ونظرًا لأن معظم المثبطات تستهدف أساسًا الـ endopeptidases؛ لذا .. فإن المصطلح proteinase inhibitor هو الأكثر استخدامًا.

وعمومًا .. فإن معظم مثبطات البروتينيز النباتية خاصة بالـ serine endopeptidases: التربسن trypsin، والكيموتربسن chymotrypsin، والإنزيمات الأخرى ذات الخصائص المشابهة لهما.

وأهم مجموعات هذه المثبطات، ما يلى:

1 – الـ Serine proteinase inhibitors .. وهى تتواجد فى معظم النباتات، ويزداد تركيزها فى أعضاء التخزين كالبذور والدرنات، حيث تشكل جزءًا يُعتدُّ به من البروتين الكلى.

2 – الـ Bowman- Brink inhibitor .. وهى تتواجد فى بذور عديد من البقوليات، مثل فول الصويا، والفاصوليا، واللوبيا، والعدس، وفاصوليا المنج.

3 – الـ Kunitz inhibitor .. وهى تتواجد فى أنواع نباتية متباينة، مثل الفاصوليا المجنحة، والشعير، والقمح.

4 – الـ Cysteine Proteinase inhibitors .. وهى تتواجد أساسًا فى الحيوانات، ولكن وجد بعضها فى النباتات، مثل الأناناس، والبطاطس، والذرة، والأرز، واللوبيا، والقمح، والشعير، والراى، والطماطم.

ولقد استخدم جين الـ CpTi فى عمليات التحول الوراثى لعديد من المحاصيل، مثل: التبغ ولفت الزيت والبطاطس والبطاطا والأرز والكرنب والفراولة وثبتت جدواه فى مقاومة حشرات معينة فى معظم الحالات.

كذلك استخدم فى عمليات التحول الوراثى الـ potato proteinase inhibitor 2 (اختصارًا PIN2) وأثبت نجاحًا فى مكافحة بعض الحشرات الهامة، مثل حفار الساق الوردى Sesamina inferens فى الأرز والخنفساء Plagiodera vesicolora فى الحور، وعددًا من منّ النجيليات.

وتتوفر أمثلة قليلة على نجاح استخدام الـ cysteine proteinase inhibitors فى عمليات التحول الوراثى لمقاومة الحشرات، ومنها عمليات التحول الوراثى فى كل من أشجار الحور والبطاطس والأرز.

وقد استخدم جين الـ α-amylase inhibitor (اختصارًا α-AI) المتحصل عليه من الفاصوليا فى التحول الوراثى للبسلة التى عُبِّر فيها عن هذا الجين بتركيز للمثبط كان مماثلاً لما فى الفاصوليا، وكانت بذور البسلة المحولة وراثيًّا مقاومة لكل من سوسة اللوبيا وسوسة فاصوليا أدزوكى.

ولمزيد من التفاصيل عن مثبطات البروتينيز .. يراجع Sadasivan & Thayumanavan (1995).

ونلقى الضوء - فيما يلى - على مثبط التربسن فى اللوبيا:

وجدت المقاومة لحشرة خنفساء بذور اللوبيا Callosobruchus maculatus فى صنف واحد من اللوبيا من بين 5000 صنف تم اختبارها، وتبين احتواء بذور هذا الصنف على تركيز من مثبطات البروتينيز أعلى جوهريًّا عما فى أى صنف آخر، وثبتت طبيعته المؤثرة على الحشرة فى اختبارات التغذية. ويعرف هذا المثبط باسم cowpea trypsin inhibitor (اختصارًا CpTi)، وهو الذى ثبت أنه يتكون من مجموعة من المثبطات (CpTis). ولقد أوضحت الدراسات العديدة التالية سميته لكثير من الحشرات الأخرى (جدول 14-27).

جدول (14-27): الآفات الحشرية التى تتأثر بمثبطات تربسن اللوبيا CpTis (عن Sadasivam & Thayumanavan 1995).

الرتبة	الحشرات	المحاصيل التى تصيبها
حرشفية الأجنحة Lepidoptera	Heliothis virescens	التبغ والقطن
	Helicoverpa zea	القطن والذرة والتبغ والفاصوليا
	Helicoverpa armigera	القطن والذرة والسورجم والفاصوليا
	Spodoptera littoralis	الأرز والقطن والتبغ والذرة
	Chilo partellus	الأرز والذرة والسورجم وقصب السكر

	Autographa gamma	**البطاطس والكرنب والخس والفاصوليا وبنجر السكر**
	Manduca sexta	**البطاطس والطماطم والتبغ**
مستقيمة الأجنحة Orthoptera	**Locusta migratoria**	**كثير من المحاصيل وخاصة النجيليات**
غمدية الأجنحة Coleoptera	**Diabrotica undecimpunctata**	**الذرة والبرسيم**
	Costelytra zealandica	**القطن**
	Callosbruchus maculatus	**اللوبيا وفول الصويا**
	Tribolium confusum	**معظم الغلال**

ب – مثبطات الأميليز amylase inhibitors:

توجد مثبطات الأميليز فى عديد من النباتات، وهى تثبط هضم النشا فى كل من الحشرات والحيوانات الأخرى. تعرف أنواع عديدة من مثبطات الأميليز، كما تعرف أنواع عديدة - كذلك - من إنزيمات الأميليز.

لقد أمكن عزل وتنقية البروتينات المثبطة لإنزيمات الـ α-amylases - الخاصة بالثدييات - من عديد من البذور النباتية، وهى تتواجد بكثرة فى حبوب النجيليات (مثل القمح والشعير والذرة والأرز والراى والسورجم) وبذور البقوليات (مثل الفاصوليا واللوبيا والعدس وفاصوليا المنج) وبعض الأنواع الأخرى (مثل اليام والقلقاس)،

وهى تثبط – كذلك – الـ α-amylases الحشرية. ويرتبط التركيز الطبيعى لمثبطات إنزيمات الـ α-amilases (الـ α-amylase inhibitors أو اختصارًا α-Als) فى البذور مع مقاومة تلك البذور للحشرات، مثل الـ bruchid beetles. وتعد إنزيمات الـ α-amylases هى الإنزيمات الهاضمة الرئيسية فى معى الحشرات، يؤدى تثبيطها إلى التعارض مع تمثيل المواد الكربوهيدراتية التى تكون فى غذائها.

المقاومة المستحثة ضد الحشرات

تمتلك النباتات القدرة على جعل كل خلية فيها نشطة فى الاستجابات الدفاعية ضد الحشرات - أو الجروح بصورة عامة - من خلال تنشيط جينات خاصة. وتهدف تلك الاستجابات - التى تنشط لدى حدوث الجروح - إلى التآم الأنسجة المضارة واستثارة النشاط الدفاعى الذى يمنع أى أضرار أخرى.

ولقد ثبت حدوث المقاومة المستحثة ضد الإصابات الحشرية فى أكثر من 100 نوع نباتى تتوزع فى 30 عائلة، وتتضمن القائمة: القطن، والذرة، والبطاطس، وفاصوليا الليما، والتبغ، والـ Arabidopsis، والفول السودانى، والكرنبيات Brassica oleracea، والشعير، و Ulmus minor، والفراولة، و Salix spp.، و Prunus spp. وعديد من معراة البذور (جدول 14-28).

تحدث معظم تلك الاستجابات فى خلال فترة زمنية تتراوح بين دقائق قليلة إلى عدة ساعات بعد حدوث التجريح، وتتضمن كل ما يتعلق بعملية تنشيط الجينات المتخصصة فى هذا الشأن.

جدول (14-28): المقاومة المستحثة بفعل الإصابات الحشرية وارتباط ذلك بالتغيرات التى تُصاحبها فى المحتوى النباتى من مركبات الأيض الثانوية (عن Panda & Khush 1995).

الحشرة الحاثّة	النبات	تفاعل المقاومة المستحَث
Pea aphid	البرسيم الحجازى	↑ Counmestrol
European pine sawfly	الصنوبر	↑ Polyphenol
Pine beauty moth	Lodgepole pine	↑ Mononterpene
Bark beetle	Lodgepole pine	↑ Terpenoid and phenolic compounds
Sweet potato weevil	البطاطا	Ipomeamarone (furanoterpenoid phytoalexin)
Gypsy moth	Gray birch	↑ Nutritional value
	Black oak	↑ Sugar
	Red oak	↑ Phenolics, hydrolyzable tannins
Lepidopteran larvae	Birch	Phenolics
Lepidopteran larvae	Birch	↑ PAL activity

Lygus disponsi	بنجر السكر	↑ Quinones
	الكرنب الصينى	↑ Phenolics
Cotton bollworm	القطن	↑ Phenolics
Spider mites	القطن	↓ Fecundity
Striped cucumber	الكوسة	↑ Cucurbitacins
Mexican bean beetle	فول الصويا	↑ Isoflavonoids
		↑ Glyceollin
		↑ PAL activity
Soybean looper	فول الصويا	↑ Glyceollin
Tobacco mosaic virus	التبغ	↓ Oviposition of Myzus persicae
Spodoptera littoralis	الطماطم	Affects feeding
Spodoptera exigua	الطماطم	↑ Proteinase inhibitor
Psylliodes chrysocephala	الكيل والمسترد	↑ Indole glucosinolate

↑ زيادة، ↓ نقص، PAL: phenylalanine ammonia lyase.

ويكون للبروتينات التى تشفر تلك الجينات لتمثيلها واحدة من الوظائف التالية:

1 - إصلاح النسيج النباتى المضار.

2 - إنتاج مواد تثبط نمو وتطور الحشرة؛ كأن تقلل من قابلية النسيج النباتى للهضم بواسطة الحشرة أو تكون سامَّة لها.

3 - الإسهام فى تنشيط إشارات الجروح الدفاعية وما يتبعها من مسارات أيضية.

4 - تكييف الأيض النباتى بما يتلاءم مع متطلبات التغذية التى فرضت عليه.

تحدث الإشارة لتمثيل حامض الجاسمونك فى النباتات عقب تعرضها لظروف شدَّ معينة مثل التجريح، والتفاعل مع المسببات المرضية، والأشعة فوق البفسيجية، والإصابات الحشرية. ويعد حامض الجاسمونك لا غنى عنه لتفتح المتوك وتطور حبوب اللقاح.

لقد وجد أن الإصابات الحشرية للنباتات تُنَشِّط مسار الـ **octadecanoid** من خلال عملية الـ **lipoxygenation** لحامض اللينولينك **linolenic acid**؛ مما يؤدى إلى إنتاج حامض الجاسمونك **jasmonic acid**، وهو الذى يعطى الإشارة للتعبير عن عدد من المركبات، مثل: الـ **proteinase inhibitor**، والـ **polyphenol oxidase**، والـ **steroid glycoalkaloids**، وهى التى يبدو أنها تُسهم - بدورها - فى مقاومة النباتات لعديد من الآفات الحشرية وبعض المسببات المرضية.

أما الفطريات والبكتيريا والفيروسات المسببة للأمراض فإنها تستحث مسارًا بنائيًّا آخر يفضى إلى إنتاج حامض السلسيلك **salicylic acid**، وهو الذى يعطى الإشارة لتكوين البروتينات ذات العلاقة بعملية الإصابة المرضية **pathogensis-related protein** والفيتوألاكسينات **phytoalexins**، وهى التى يبدو أنها تُسهم فى مقاومة النباتات لعديد من المسببات المرضية وبعض الآفات الحشرية.

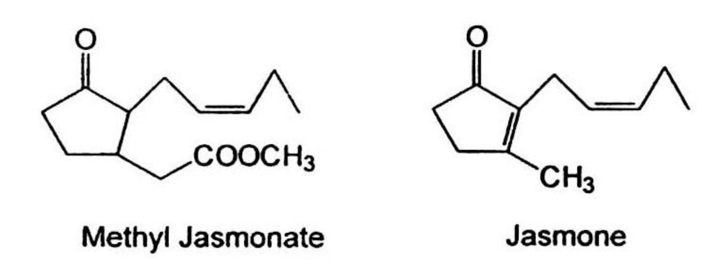
وتقود تلك المسارات الأيضية إلى استجابات جهازية بواسطة النبات تسمى "المقاومة المستحثة" **induced resistance** (اختصارًا: **IR**)، والمقاومة الجهازية المكتسبة **systemic acquired resistance** (اختصارًا: **SAR**).

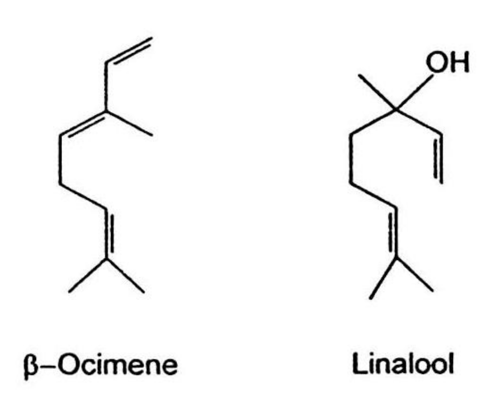
إن الاستجابات النباتية المستحثة ضد الإصابات الحشرية تتضمن إنطلاق مركبات كيميائية متطايرة، وهى تقسم إلى خمس مجاميع كما يلى (عن **Sadasivam & Thayumanavan 1995**):

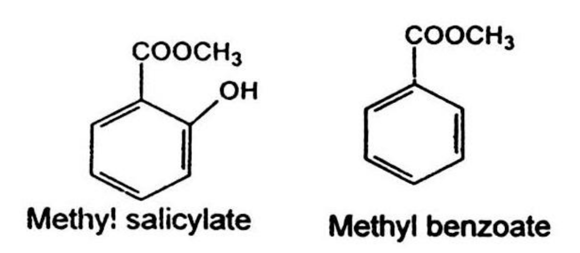
مجموعة المركبات أو فئتها	المركبات المنطلقة
المركبات المتطايرة التى تنطلق من الأوراق الخضراء يُحصل عليها من الـ **Ocatdecanoid pethway**، وتتضمن:	
	● **cis-3-hexen-1-ol**
	● **cis-2-hexenylacetate**
	● **cis-3-hexenylbutyrate**
المركبات التربينية المتطايرة **terpenoid volatiles**	● **trans-β-ocimene**
	● **cis-α-bergamotene**
	● **trans-β-farnesene**
	● **linalool**
	● **4-8-dimethyl-1,3E,7-dimethylnonatrine**
	(اختصارًا: **DMNT** أو **Homoterpene I**)
	● **4,8,12-trimethyl-1,3E, 7E, 11-tridecatetraene**

		(اختصارًا: TMMT أو homoterpene II)
مركبات يُتحصل عليها من الـ shikimate pathway		● methylsalicylate
		● methybenzoate
		● indole
مركبات الإشارة signal compounds		(وهو● systemin (oligopeptide
		(oligosaccharides ●من الجدر الخلوية المضارة(
		● jasmonates
		● ethylene
مركبات يُتحصل عليها من الحشرات ذاتها		(يُتحصل عليه من إفرازات الفم لدودة ● Volicitin ورق القطن الصغرى، وهو يستحث الذرة على إنتاج المركبات المتطايرة التى تجذب الأعداء الحيوية للحشرة)
		(Bruchins ●يُتحصل عله من سوستى البسلة واللوبيا(
		(β-glucosidase ●وهى المستحثات الأساسية(

ويبين شكل (14-17) التركيب البنائى لبعض من تلك المركبات التى يُستَحَث إنتاجها.







شكل (14-17): التركيب الكيميائى لبعض المركبات التى يُستَحَث إنتاجها.

iv. Green leaf volatiles

CHO

3-Hexenal

O
O

3-Hexenyl acetate

v. Insect-derived fatty acid derivatives

COOH
NH—CH
CH_2—CH_2—CO—NH_2
O
OH

Volicitin

O
C = O
O
C = O
OH
OH

Bruchin C

تابع شکل (14-17).

طبيعة المقاومة للحشرات والأكاروسات فى بعض الأنواع النباتية

أولا: محاصيل الخضر

جنس الطماطم .Lycopersicon spp:

تفرز الغدد المتصلة بالشعيرات الغدية فى بعض الأنواع التابعة للجنس Lycopersicon مواد متنوعة قد تعمل على إعاقة حركة الآفة، وقد تكون سامة بالملامسة، أو طاردة لها. تكسب هذه الإفرازات السلالات المنتجة لها مقاومة لكل من الآفات التالية:

Epitrix hirtipenni.

Trialeurodes vaporariorum

Macrosiphum euphorbiae

نوعان من الأكاروس

وترجع مقاومة الطراز النباتى glabratum للنوع L. hirsutum - جزئيًّا - إلى وجود مبيدين حشريين ضمن إفرازات الطراز السادس type VI للشعيرات الغدية، هما 2-undecanone، 2-tridecanone methyl ketones. أما المكونات الرئيسية المسئولة عن المقاومة فى إفرازات الشعيرات الغدية للنوع L. hirsutum f. typicum؛ فهى نوعان من الـ sesquiterpenes، هما: زنجبرين zingiberene، وجاماإيليمين gamma-elemene (Snyder وآخرون 1987، و Weston وآخرون 1989)، كما لا يخلو الأمر من تأثير ميكانيكى كذلك لشعيرات الطراز الرابع على حركة الأكاروس (Good & Snyder 1988) التى ارتبطت كثافتها بالمقاومة للأكاروس فى النوع L. hirsutum f. typicum (Weston وآخرون 1989).

هذا .. وقد وجد أن التركيز المرتفع لمركب 2-tridecanone فى السلالة PI 134417 من L. hirsutum f. glabratum يتحكم فيه ثلاثة أزواج - على الأقل - من الجينات المتنحية، وأن مقاومة حشرة Manduca sexta - فى هذه السلالة - ترتبط بالتركيز العالى لهذا المركب، ويتحكم فيها نفس النظام الوراثى (Fery & Kenndy 1987).

إن المركب 2-tridecanone - الذى يوجد فى إفرازات الشعيرات الغدية ذى الأربعة فصوص للنوع البرى L. hirsutum f. glabratum - يعد سامًّا لمدى واسع من الحشرات، وهو - فى الوقت ذاته - لا يتواجد بتركيز يعتد به فى السلالة PI251304 من L. hirsutum f. glabratum التى استخدمت من قبل فى تربية المحصول لأجل مقاومة ذبابة البيوت المحمية البيضاء. وبالمقارنة .. فإن المقاومة المعتمدة على 2-tridecanone فى السلالة PI134417 من ذات النوع البرى لا تكون فعالة إلاّ إذا كسرت الشعيرات الغدية، كما أن الذبابة البيضاء لا يمكنها كسر الأغشية الخلوية لتلك الشعيرات. ولذا .. لا يعتقد بأهمية هذا المركب فى مقاومة الذبابة البيضاء.

كذلك تعد الجليكوألكالويدات Glycoalkaloids (وهى steroidal gulcosides تحتوى على نيتروجين) - التى توجد فى جميع الأنسجة النباتية للباذنجانيات - طاردة، أو سامة للحشرات التى تتغذى عليها؛ فمثلا .. وجد أن زيادة تركيزها فى النموات الخضرية للطماطم يكون مصاحبًا بزيادة فى مستوى المقاومة لحشرة Leptinotarsa decemlieata.

أما النوع L. pennellii الذى يقاوم عديدًا من الحشرات، فقد وجد أن مقاومته ترجع إلى وجود إسترات سكر (sugar esters) ضمن إفرازات الطراز الرابع للشعيرات الغدية، علما بأن هذه الشعيرات لا توجد طبيعيًّا فى الطماطم المزروعة وأن وجودها يوَّرث كصفة بسيطة سائدة يتحكم فيها زوجان من الجينات، وأن أيًّا من هذين الجينين كاف لظهور الصفة (Goffreda وآخرون 1990).

وقد تبين أن مقاومة النوع L. pennellii لذبابة البيوت المحمية البيضاء ترجع إلى ما تحتويه نباتاته من إفرازات لزجة للشعيرات الغدية التى توجد بأوراقها وسيقانها، والتى لا يمكن للحشرة الفكاك منها. ولقد تبينت تلك العلاقة بين المقاومة والإفرازات الغدية اللزجة بجلاء فى النباتات الانعزالية فى الجيل الثانى والأجيال التالية له للتلقيح بين الطماطم وهذا النوع البرى، كما أن إزالة الشعيرات اللزجة - من أوراق النباتات المقاومة - بالأسيتون جعلتها قابلة للإصابة.

وبينما تزداد المقاومة بشدة فى النباتات التى تكثر فيها الشعيرات اللزجة بدرجة عالية، فإن ذلك لا يتناسب مع عمليات تداول المحصول أثناء إنتاجه. كذلك فإن اللزوجة الجزئية التى قد لا تتعارض مع عمليات تداول المحصول أثناء إنتاجه يصاحبها - كذلك - مقاومة جزئية؛ الأمر الذى قد يكون أفضل من عدم المقاومة، إلاّ أن تلك اللزوجة الجزئية تؤدى إلى إضعاف نشاط الزنبور المتطفل على الذبابة: Encarsia formosa، الذى يفيد فى مكافحة الذبابة - بيولوجيًّا - فى البيوت المحمية. وبسبب تلك المشاكل، فقد توقف برنامج تربية الطماطم لمقاومة ذبابة البيوت المحمية البيضاء اعتمادًا على L. pennellii كمصدر للمقاومة.

وبالمقارنة .. فإن برنامج التربية لمقاومة ذبابة البيوت المحمية البيضاء اعتمادًا على L. hirsutum نجح فى انتخاب سلالة جيل سابع كان مستوى مقاومتها مماثل لمقاومة الأب البرى (عن De Ponti وآخرين 1990).

ومن أهم الفيروسات التى تنقلها الذبابة البيضاء للطماطم، ما يلى:

1 - فيرس تجعد واصفرار أوراق الطماطم tomato yellow leaf curl virus (واسع الانتشار).

2 - فيرس تجعد أوراق الطماطم tomato leaf curl virus (السودان والشرق الأقصى).

3 - فيرس تحلل الطماطم الشاحب tomato pale necrosis (إسرائيل).

4 - فيرس تقزم وتحلل الطماطم tomato necrotic dwarf virus (كاليفورنيا).

5 - فيرس موزايك الطماطم الذهبى tomato golden mosaic virus (البرازيل).

جنس البطاطس .Solanum spp:

تُسبب إفرازات الغدد المتصلة بالشعيرات الغدية فى عديد من أنواع البطاطس البرية شللاً لحركة عديد من الآفات الحشرية والأكاروسية؛ منها ما يلى:

Myzus persicae

Macrosiphum euphorbiae

Leptinotarsa decemlineata

Epitrix harilana rubia

Tetranychus urticae

Empoasca faba

Epitrix cucumeris

كذلك يرتبط محتوى الجليكوألكالويدات فى النموات الخضرية لبعض أنواع الجنس Solanum والتى تكون درنات بالمقاومة لكل من:

Empoasca faba

Leptinotarsa decemlineata

الفاصوليا:

تكسب الشعيرات المعقوفة hooked trichomes التى تبرز من خلايا بشرة الفاصوليا النباتات مقاومة لكل من الآفات التالية:

Aphis fabae

A. craccirora

Myzus persicae

Empoasca faba

تخترق هذه الشعيرات أجسام الحشرات الصغيرة فى الأجزاء الطرية غير المتصلبة فى كل من البطن والأرجل. ويزيد مستوى المقاومة بزيادة كثافة هذه الشعيرات (عن Tingey 1980).

كما تحتوى بذور بعض سلالات الفاصوليا على بوليببتيدات يتراوح وزنها الجزيئى بين 32000، و 36000 تكسبها مقاومة عالية جدًّا ضد سوسة بذور الفاصوليا Zabrotes subfaciatus، ولقد أطلق على هذا البروتين اسم أرسلين acrelin، وتبين وجود أربعة طرز منه فى سلالات الفاصوليا المختلفة، أُعطيت الأرقام من 1 إلى 4. وأوضحت الدراسات أن بذور الفاصوليا التى احتوت على أى من الأرسلين 1 أو 2 أو 4 كانت على درجة عالية من المقاومة، بينما لم تكن تلك التى احتوت على أرسلين 3 مقاومة.

وقد ساعد هذا الاكتشاف فى سهولة إجراء اختبار التقييم للمقاومة؛ إذا إن بوليببتيدات الأرسلين يمكن اكتشافها بسهولة بتحليل الـ SDS-PAGE على قطعة صغيرة من الورقة الفلقية؛ فلا يحتاج الأمر إلى العدوى بالحشرة لتمييز وانتخاب التراكيب الوراثية المقاومة (عن Gatehouse 1991).

القرعيات Cucurbits:

أرجعت المقاومة للآفات فى القرعيات إلى عدة عوامل كما يلى:

1 - تحتوى مختلف القرعيات على 14 نوعًا على الأقل من مركبات تعرف بالكيوكربتسينات Cucurbitacins (شكل 14-18) (تعرف بأنها: Tetracyclic triterpenoides and their glycosides). وتعمل هذه المركبات كجاذبات للتغذية بالنسبة لكل من خنافس الخيار:

Diabrotica undecimpunctata

D. balteata

Acalymma vittata

ولكنها تعد طاردة أو سامَّة للعنكبوت الأحمر Tetranychus urticae.

2 - تحتوى سيقان الكوسة المقاومة لحشرة Melittia cucurbitae على أنسجة ملجننة بكثافة عالية تجعلها صلبة ومتخشبة؛ الأمر الذى يحد من دخول اليرقات وتجولها فى الساق.

3 - تتناسب مقاومة الكوسة لحشرة Diaphania nitadalis طرديًّا مع محتوى الثمار والنموات الخضرية من المواد الكربوهيدرانية.

4 - وجدت كذلك علاقة طردية بين مستويات الأحماض الأمينية الكلية والمقاومة لحشرة Anasa tristis.

شكل (14-18): التركيب البنائى للـ Cucurbitacin B.

الصليبيات Crucifers:

تحتوى نباتات العائلة الصليبية كالكرنب، والقنبيط، والفجل، وغيرها على مجموعة غير عادية من المركبات الكبريتية تعرف باسم الجلوكوسينولات Glucosinolates. وقد تبين أن هذه المركبات جاذبة أو منشطة لعديد من حشرات الصليبيات، مثل:

Pieris brassicae

P. rapae

Plutella maculipennis

Listroderes costirostris obliguus

Phaedon cochleariae

Brevicoryne brassicae

Phyllotreata cruciferae

P. striolata

إلا أن هذه المركبات تعد سامة لعديد من الحشرات الأخرى.

وفى الكيل .. وجد أن المقاومة لحشرة Plutella maculipennis ترتبط بتزاحم واندماج خلايا الأوراق إلى درجة إعاقة اختراق اليرقات لها.

البصل:

يحتوى البصل على مركبات كبريتية، تعطى البصل طعمة ومذاقة المميزين، مثل: الـ -methyl, a propyl & allyl sulfides.

وتعمل خمسة من هذه المركبات على الأقل كمنشطات وجاذبات لوضع بيض حشرة Hylema antiqua.

البسلة:

ترتبط المقاومة لحشرة Acyrthosiphon pisum بالنقص فى مستوى النيتروجين الكلى، ومستوى 24 حامضًا أمينيًّا فى النموات الخضرية للبسلة (عن Tingey 1980).

ثانيًا: المحاصيل الحقلية

يبين جدول (14-29) طبيعة المقاومة للحشرات فى عدد من المحاصيل الحقلية.

مصادر إضافية عن طبيعة المقاومة

لمزيد من التفاصيل المبكرة حول طبيعة المقاومة للحشرات فى النباتات .. يراجع: Beck (1965)، و Wallace & Mansell (1976)، و Norris & Kogan (1980)، و Hedin (1983).

جدول (14-29): طبيعة المقاومة للحشرات فى بعض المحاصيل الزراعية (عن Singh 1993).

المحصول	الآفة الحشرية	سبب المقاومة	طبيعة المقاومة
القمح	ذبابة هسيان	الجينات من H1 إلى H8	التضادية الحيوية
	الذبابة المنشارية	الساق المصمت	عدم التفضيل والتضادية الحيوية
	البقة الخضراء	المحتوى العالى للـ benzyl alcohol	التضادية الحيوية
الشعير	خنفساء أوراق الحبوب	الأوراق الشمعية وتلك الكثيرة الشعيرات	القدرة على التحمل والتضادية الحيوية
الأرز	ناخرة ساق الأرز	المحتوى العالى للسيليكا	التضادية الحيوية
		الساق الملجنن	عدم التفضيل
		كثرة الأنسجة الاسكليرونشيمية فى الساق	القدرة على التحمل

	نطاطات النباتات البنية	انخفاض محتوى الأسبارجين بالأوراق	عدم التفضيل
		البيريكارب الأحمر والميسم القرمزى	عدم التفضيل
الذرة	حفار ساق الذرة الأوروبى	محتوى الـ DIMBOA بالأوراق	التضادية الحيوية
	حفار ساق الذرة	المحتوى العالى من حامض الأسبارتك، مع انخفاض محتوى النيتروجين والسكريات	التضادية الحيوية
	دودة كيزان الذرة	صلابة أغلفة الكوز	عدم التفضيل
	من أوراق الذرة	محتوى الأوراق العالى من الـ DIMBOA	عدم التفضيل والتضادية الحيوية

تابع جدول (14-29).

المحصول	الآفة الحشرية	سبب المقاومة	طبيعة المقاومة
القطن	ديدان اللوز	ارتفاع محتوى الـ gossypol	التضادية الحيوية
		الأوراق الملساء	عدم التفضيل
		انعدام الغدد الرحيقية	عدم التفضيل
		التبكير	الإفلات من الإصابة
	سوسة اللوز	لون النبات الأحمر	عدم التفضيل
		التبكير	الإفلات من الإصابة
	الجاسيد	كثرة الشعيرات بالأوراق	عدم التفضيل
بنجر السكر	المن	انخفاض محتوى السكر الحر	عدم التفضيل والتضادية الحيوية
البرسيم الحجازى	من البرسيم الحجازى المبقع ومن البسلة	ارتفاع محتوى الـ saponin	التضادية الحيوية
لفت الزيت	من الكرنب	انخفاض محتوى الـ sinigrin	عدم التفضيل والتضادية الحيوية

الفصل الخامس عشر

التربية لمقاومة النباتات الزهرية المتطفلة

تنتمى أهم النباتات الزهرية المتطفلة من مغطاة البذور إلى العائلات التالية:

النبات المتطفل	العائلة التى ينتمى إليها
الهالوك (Orobanche spp.) broomrape	Orobanchaceae
حشيشة الساحر (Striga spp.) witchweed	Scrophulariaceae
الحامول (Cuscuta spp.) dodders	Convolvulaceae
الدبق dwarf mistletoes	Loranthaceae
الدبق المتقزم dwarf mistletoes	Viscaceae

ونلقى الضوء فى هذا الفصل على جهود التربية التى بذُلت فى مجال التربية لمقاومة تلك النباتات، وخاصة الهالوك وحشيشة الساحر.

التربية لمقاومة الهالوك

تتوفر المقاومة للهالوك .Orobanche spp فى عدد من المحاصيل الزراعية؛ منها: الفول، والطماطم، وبعض الصليبيات، ودوار الشمس، والبقية Vetch، ولفت الزيت B. campestris، والمسترد B. junica.

المقاومة فى الفول

أُختبِر 53 صنفًا للمقاومة لنوع الهالوك O. crenata، ووجِدَ أن الصنف Express كان أكثرها مقاومة. ووجد Boorsma (1980) اختلافات كبيرة بين أصناف الفول الرومى فى مقاومتها لنفس نوع الهالوك.

كذلك أمكن تحديد جين رئيسى واحد يتحكم فى المقاومة لنوع الهالوك O. aegyptiaca، وربما تأثرت المقاومة ببعض الجينات الأخرى المحورة (عن Russell 1978).

يعتبر صنف الفول البلدى المصرى جيزة 402 من بين أوائل الأصناف التى طورت لأجل مقاومة الهالوك، ومنه انتخبت تحت ظروف الحقل فى جنوب إسبانيا السلالة VF1071، وهى التى لقحت مع الصنفين الإسبانيين Alameda، و Brocal، حيث نتج من ذلك البرنامج - بعد دورتين من الانتخاب الإجمالى - الصنف Baraca، الذى يعد أكثر مقاومة من VF1071، ربما بسبب اكتسابه بعض الجينات من Alameda الذى يعد متحملاً للهالوك (عن Parker & Wilson 1986، و Cubero وآخرين 1994).

وتعد المقاومة للنبات المتطفل O. crenata فى صنف الفول البلدى جيزة 402 صفة كمية يتحكم فيها عدة جينات ذات تأثير إضافى (عن Lane وآخرين 1997).

المقاومة فى دوار الشمس

أجريت معظم جهود التربية لمقاومة النبات المتطفل Orobanche cumana فى دوار الشمس فى الاتحاد السوفيتى السابق، وذلك منذ أوائل القرن الماضى، وكذلك فى كل من رومانيا وبلغاريا وتركيا وإسبانيا وإسرائيل. ومع إنتاج أول الأصناف المقاومة (مثل: Kruglik A41، و Saratovskii، و Fuxinka 3 وغيرهم) بداية من عام 1912، واستخدامها فى مكافحة الهالوك على نطاق واسع تبين أن المقاومة لا تستمر طويلاً، حيث لا تلبث أن تظهر سلالة جديدة قادرة على كسرها. ومع استمرار إنتاج أصناف جديدة مقاومة وكسر تلك المقاومات بسلالات جديدة تظهر فى مناطق مختلفة من العالم .. أمكن التعرف على خمس سلالات من الطفيل أخذت الرموز الأبجدية من A إلى E (جدول 15-1)، ويعتقد - حاليًا - بظهور سلالة أخرى F فى إسبانيا (عن Lane وآخرين 1997).

هذا .. إلا أنه لا يعرف أى شئ عن وراثة الضراوة virulence فى سلالات النبات المتطفل.

جدول (15-1): سلالات Orbonche cumana على دوار الشمس.

	سلالات C. cumana				
أصناف وسلالات دوار الشمس المفرقة	A	B	C	D	E
AD66	S	S	S	S	S
Kruglik A41	R	S	S	S	S
Zhanov 8281	R	R	S	S	S
Record	R	R	R	S	S
S1358	R	R	R	R	S
P1380	R	R	R	R	R

S = قابل للإصابة susceptible، و R = مقاوم resistant.

وقد أظهرت الدراسات التى أجريت على المقاومة للنبات المتطفل O. cumana وجود خمسة جينات سائدة للمقاومة، كما يلى:

الجين Or5	ويتحكم فى المقاومة للسلالات A إلى E.
الجين Or4	ويتحكم فى المقاومة للسلالات A إلى D.
الجين Or3	ويتحكم فى المقاومة للسلالات A إلى C.
الجين Or2	ويتحكم فى المقاومة للسلالتين A، و B.
الجين Or1	ويتحكم فى المقاومة للسلالة A فقط.

واحتوت ثلاثة أصناف إسبانية مقاومة للهالوك على جينات سائدة مفردة للمقاومة، ولكن كان بينها تفاعلات تفوق.

ويتحكم فى المقاومة بالصنف الإسرائيلى Sunbred 254 جين واحد سائد كذلك.

وتبين أن تفاعل مقاومة الصنف التركى Erdiner لا يحدث إلاّ بعد اختراق الطفيل لجذور خلايا العائل، حيث لا يلبث أن يموت بعد حدوث تحلل فى خلايا العائل المحيطة بمنطقة الاختراق، مع حدوث زيادة فى لجننة عناصر الخشب بالعائل المجاورة لأنسجة O. cumana.

وفى الصنف Sunbred 254 لوحظت زيادة فى سمك جدر خلايا العائل حول O. cumana، مع زيادة فى المحتوى الفينولى لخلايا العائل.

وتجدر الإشارة إلى أن مقاومـــة الصنف Sunbred 254 - التى تظهر بوضــوح فى الجو المعتدل البرودة - تُفقد فى ظروف الجـــو الحار صيفًا (عن Lane وآخرين 1997).

وقد تباينت نتائج الدراسات المختلفة بشدة - بشأن وراثة مقاومة دوَّار الشمس للهالوك Orobanche cumana بين كونها بسيطة وسائدة، وبسيطة ومتنحية، وكمية، وسيتوبلازمية. وقد أيدت دراسات Ish-Shalom-Gordon وآخرون (1993) - على السلالتين المقاومتين SW-501، و RW-637 - كون المقاومة بسيطة وسائدة.

هذا .. ويزرع فى روسيا وحدها أكثر من 60 مليون هكتار من عباد الشمس المقاوم للهالوك.

المقاومة فى الطماطم

فى جنس الطماطم .Lycopersicon spp .. لا يعرف أى مصدر لمقاومة الهالوك فى نوع الطماطم L. esculentum باستثناء الصنف Pzu-11 الذى ذكر عنه أنه مقاوم لنوع الهالوك O. aegyptiaca، ولكن تلك المقاومة لم تظهر لدى إعادة اختباره، هذا .. إلا أنه أمكن التعرف على عدة مصادر للقدرة على تحمل الإصابة بأنواع الهالوك O. ramosa، و O. crenata، و O. minor فى بعض سلالات الأنواع البرية L. hirsutum، و L. peruvianum، و L. pimpinellifolium، و L. esculentantum var cerasiforme (Hassan & Abdel-Ati 1986، و Kasrawi & Abu-Irmaileh 1989).

التربية لمقاومة حشيشة الساحر

الأهمية الاقتصادية

تشكل عوائل حشيشة الساحر .Striga spp حوالى 70% من غذاء سكان المناطق شبه القاحلة جنوب الصحراء فى أفريقيا، وتشكل اللوبيا وحدها نحو 50% من مصدر البروتين فى غذائهم (جدول 15-2). وتقترب الخسائر التى يحدثها هذا النبات المتطفل من حوالى 30% من تلك المحاصيل.

جدول (15-2): العوائل الهامة للأنواع المختلفة من جنس Striga وتوزيعها الجغرافى (عن Lane & Bailey 1992).

النوع	التوزيع الجغرافى	العوائل الهامة
S. asiatica	شرق وغرب وجنوب أفريقيا - الهند - الشرق الأدنى - الشرق الأقصى - الولايات المتحدة	الذرة - السورجم - الدُخن اللؤلؤى - قصب السكر - الأرز
S. hermonthica	شرق وغرب أفريقيا	الذرة - الدُخن اللؤلؤى - السورجم - قصب السكر
S. gesneriodes	غرب وجنوب أفريقيا - الهند - الشرق الأدنى - الولايات المتحدة	اللوبيا - التبغ فى جنوب أفريقيا

تطفل وبيولوجى حشيشة الساحر

تعد جميع أنواع الـ Striga إجبارية التطفل. تحتاج بذور الـ Striga إلى إفرازات من جذور العائل لكى تبدأ الإنبات؛ بما يعنى أن البذور القريبة من الجذور - فقط - هى التى تنبت، بينما تظل بقية البذور ساكنة.

لا تنبت بذور النباتات الزهرية المتطفلة إلاّ بعد أن تتعرض لمحفزات الإنبات التى تفرزها جذور ساكنة فى التربة، ويرجع ذلك إلى أن جذور عوائلها - مثل السورجم - تفرز بامتداد طولها - وهى فى طور البادرات الصغيرة - هيدروكينون hydroquinone يحفز إنبات بذور الـ Striga إذا ما تعرضت له بتركيز يقدر بنحو 100 نانومول لمدة لا تقل عن خمس ساعات. ونظرًا لأن الهيدروكينون يتأكسد سريعًا إلى كينون quinine - وهو الذى لا يعد محفزًا لإنبات بذور الـ Striga - وأن هذا التحول يزداد تأكيدًا بمرور الوقت؛ لذا .. فإن أعلى تركيز من الهيدروكينون لا يكون إلاّ بالقرب من الجذور؛ ومن ثم لا تنبت إلاّ البذور القريبة جدًّا من الجذور (عن Strange 1993).

يخترق جذير الـ Striga جذر العائل، ويكون ممصات على سطح تلك الجذور تقوم بتسهيل انتقال الغذاء والماء من العائل إليه. وبينما يكون اعتماد الـ Striga على عائله كاملاً إلى أن تظهر نمواته فوق سطح التربة، فإنه يمكنه بعد ذلك القيام بعملية البناء الضوئى، إلاّ أنه يستمر فى الحصول على الجزء الأكبر من غذائه من عائله.

يكتمل الإزهار وتكوين البذور فى نبات الـ Striga بعد نحو 6-8 أسابيع من بزوغ ساقه فوق سطح التربة. ويمكن للنبات الواحد إنتاج ما بين 20000، و 90000 بذرة حسب النوع الذى ينتمى إليه، كما يمكن لتلك البذور البقاء فى التربة حتى عشرين عامًا (عن Lane & Bailey 1992).

المقاومة فى اللوبيا

اختبارات التقييم

تجرى اختبارات التقييم للمقاومة إما فى الأراضى الموبوءة ببذور النبات المتطفل وإما فى أصص يتم تلويثها بأعداد معلومة من بذور الطفيل، ويُعاب على الطريقة الأولى أن التلوث الحقلى قد يكون شديدًا جدًّا إلى درجة يمكن أن تقضى على جميع حالات المقاومة غير التامة، كما قد يكون غير متجانس؛ مما يؤدى إلى ظهور حالات إفلات من الإصابة.

الأصناف المقاومة وسلالات الطفيل والتفاعل بينها

أنتخبت سلالتين محليتين من اللوبيا فى كل من النيجر (السلالة 872)، ونيجيريا (السلالة APL1) تميزيتا بمقاومتهما لـ S. gesnerioides مع صفات بذرية جيدة، كما أُنتج الصنفين المقاومين: Suvita-2، و 58-57 فى بوركينا فاسو (عن Parker & Wilson 1986)، ولكنهما وجدا قابلين للإصابة فى نيجيريا بسبب اختلافات السلالات الفسيولوجية فى عشائر النبات المتطفل بغرب أفريقيا (جدول 15-3). وتنتشر زراعة الصنف الأول تجاريًّا فى مالى. كما أنتج صنف آخر من اللوبيا (هو: IT82D-849) كان مقاومًا لجميع سلالات هذا النوع المتطفل.

وفى دراسة أخرى جمعت بذور 48 عينة من S. gesnerioides من مختلف دول غرب أفريقيا (مالى - النيجر - بوركينا فاسو - نيجيريا - بِنين - غانا - غينيا - ساحل العاج) واستخدمت فى عدوى أربعة أصناف وسلالات من اللوبيا، وأدى هذا الاختبار إلى تمييز خمس سلالات من النبات المتطفل (جدول 15-4).

جدول (15-3): تفاعل أصناف اللوبيا مع عشائر S. gesnerioides فى غرب أفريقيا (عن Lane & Bailey 1992).

	مكان انتشار سلالة S. gesnerioides		
صنف اللوبيا	بوركينا فاسو	مالى	النيجر ونيجيريا
Blackeye	S	S	S
58-57	R	S	S
Suvita-2	R	R	S
B301	R	R	R
IT82D-849	R	R	R

S = قابل للإصابة susceptible، و R = مقاوم resistant.

جدول (4-15): سلالات Striga gesnerioides على اللوبيا (عن Lane وآخرين 1997).

أصناف وسلالات	سلالة S. gesnerioides				
اللوبيا المفرقـــــــة	1	2	3	4	5
Blackeye	S	S	S	S	S
58-57	R	S	S	R	R
IT81D-994	R	R	S	R	S
B301	R	R	R	S	R

S = قابل للإصابة susceptible، و R = مقاوم resistant.

وراثة المقاومة

يتحكم فى وراثة المقاومة للنبات المتطفل S. geserioides جين واحد سائد، ولكن يختلف هذا الجين من صنف لآخر؛ فهو: Rsg 1 فى الصنف B301، و Rsg 2 فى IT82D-849، و Rsg 3 فى Suvita 2.

طبيعة المقاومة

يتحكم فى طبيعة المقاومة للنبات المتطفل S. gesnerioides فى اللوبيا عاملين - ليس منهما تقليل إنبات بذور الطفيل - وهما ما يلى:

1 - ارتباط اختراق الـ Striga لجذور العائل بظهور تحلل فى خلايا العائل المحيطة بجذير الطفيل المخترق لها، وهى ظاهرة تشبه حالة فرط الحساسية التى تحدث فى الإصابات الميكروبية (الفطرية والبكتيرية والفيروسية والنيماتودية) غير المتوافقة. وفى خلال 5-7 أيام من مراحل الإصابة يصبح جذير الـ Striga أسود اللون ويموت. تلاحظ تلك الظاهرة فى صنف اللوبيا المقاوم 57-58.

2 - وفى صنف اللوبيا B301 تشاهد أعراض فرط حساسية مماثلة لما سبق بيانه، ولكن ذلك يحدث فى نسبة صغيرة - فقط - من جذيرات الـ Striga المخترقة لجذور العائل، لكن بالإضافة إلى ذلك فإن ممصات الـ Striga التى تكونها البادرات الكثيرة التى تنجح فى النمو لا تكبر فى الحجم وتبقى أقل من 0.5مم فى القطر؛ الأمر الذى يمنع نمو سيقان الطفيل (عن Lane & Bailey 1992).

المقاومة فى السورجم

أُنتج فى الهند عددًا من أصناف السورجم المقاومة للنوع S. asiatica (مثل: SAR-1)، وهى التى حافظت على مقاومتها عندما اختبرت - كذلك - فى جنوب أفريقيا، كما أن أحد تلك الأصناف (وهو IS-7777) أظهر فى اختبارات بغرب أفريقيا مقاومة لكل من النوعين: S. asiatica، و S. hermonthica. وقد أُنتج فى السودان صنفين من السورجم بهما مقاومة جزئية للنوع S. hermonthica، هما: SRN-39، و IS-9830.

وقد تبين أن العامل الرئيسى المسئول عن المقاومة - فيما يعرف من أصناف مقاومة - هو ضعف تحفيز الجذور لإنبات بذور الطفيل Striga asiatica، إلاّ أن بعض الأصناف - مثل N-13 تحفز إثبات بذور الطفيل، ولكنها تدعم تكوين عدد قليل من سيقانه عما فى الأصناف القابلة للإصابة. كما تبين فى ستة أصناف مقاومة جزئيًّا أن التركيب التشريحى للجذور يمنع أو يؤخر اختراق الطفيل لها. فمثلاً .. كانت الجدر الخلوية لطبقة البشرة الداخلية والطبقة المحيطة فى جذور الصنف N-13 أكثر سمكًا - قبل اجتياح الطفيل لها - عما فى الأصناف القابلة للإصابة. أما الصنف IS-7777 فقد تكونت بخلايا جذوره الملامسة للطفيل المخترق لها طبقات غنية بالسيليلوز بسرعة أكبر مما حدث فى صنف قابل للإصابة.

وأوضحت الدراسات أن مقاومة الأصناف التى لا تحفز إنبات بذور الطفيل يتحكم فيها جين واحد متنح، بينما تبين أن مقاومة صنف السورجم L187 للطفيل S. hermonthica يتحكم فيها 2-5 جينات متنحية (عن Lane & Bailey 1992).

المقاومة فى الذرة

لم تكتشف أى درجة عالية من المقاومة للـ Striga فى الذرة، ولكن وجدت به حالات من المقاومة الجزئية فقط، كما وجدت بعض السلالات المتحملة للإصابة (عن Lane & Bailey 1992).

التربية لمقاومة الحامول

تُعرف حالتان من المقاومة للحامول فى النباتات، وقد أرجعت كلتاهما إلى فرط الحساسية، وهما:

1 - مقاومة إحدى سلالات Lycopersicon esculentum var. cerasiforme للنوع Cuscuta campestris.

2 - مقاومة بعض سلالات Vigna radiata (الـ green gram) للنوع Cuscuta chinensis (عن Cubero وآخرين 1994).

مصادر الكتاب

حسن، أحمد عبدالمنعم (2005أ). الأسس العامة لتربيات النبات. الدار العربية للنشر والتوزيع - القاهرة - 477 صفحة.

حسن، أحمد عبدالمنعم (2005ب). طرق تربية النبات. الدار العربية للنشر والتوزيع - القاهرة - 393 صفحة.

حسن، أحمد عبدالمنعم (2005جـ). تحسين الصفات الكمية: الإحصاء البيولوجى وتطبيقاته فى برامج تربية النبات. الدار العربية للنشر والتوزيع - القاهرة - 251 صفحة.

حسن، أحمد عبدالمنعم (2007). التكنولوجيا الحيوية وتربية النبات. الدار العربية للنشر والتوزيع - القاهرة - 782 صفحة.

Abobaker, M. A., M. A. EL-Sherif, G.A. Karaman, and S.H. Gad El- Hak. 1984. Inheritance of resistance to root- knot nematodes Meloidogyne spp. In some cowpea cultvars. Proc.2nd Mediterranean Conference of Genetics, Cairo, pp. 1-8.

Agrawal, R. L. 1998. Fundamentals of plant breeding and hybrid seed production. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA. 394 p.

Agrios, G.N. 1980. Escape from disease, Vol.V: 17-37. In: J.G. Horsfall and E.B. Cowling. (eds). Plant disease: an advanced treatise. Academic Pr., N.Y.

Abdallah, M.M.F. and J.G.Th. Hermsen. 1971. Concept of breeding for uniform and differential resistance and their integration. Euphytica 20: 351-361.

Alarcón, C., J. Castro, F. Munoz, A. Arce-Johnson, and J. Delgado. 1998. Protein(s) from the gram-positive bacterium Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis induces a hypersensitive response in plants. Phytopathology 88: 306-310.

Alexander, L.J. and M.M. Hoover. 1955. Disease resistance in. wild species of tomato. Ohio Agric. Expt. Sta. Res. Bul. 752.

Alexander, L. J. 1959 Progress report of national screening committee for disease resistance in tomato for 1954-1957. Plant Dis. Reptr. 43: 55-65.

Alexopoulos, C. J. and E. S. Beneke. 1962. Laboratory manual for introductory mycology. Burgess Pub. Co., Minneapolis. 199 p.

Allard, R.W. 1964. Principles of plant breeding. Wiley, N.Y. 485 p.

Allefs, S. J. H. M., E. R. de Jong, D. E. A. Florack, C. Hoogendoorn, and W. J. Stiekema. 1996. Erwinia soft rot resistance of potato cultivars expressing antimicrobial peptide tachyplesin I. Molecular Breeding 2(2): 97-105.

Allen, P. J. 1959. Physiology and biochemistry of defense Vol.1: 435-467. In: J. G. Horsfall and A. E. Dimond (eds.). Plant pathology – an advanced treatise. Academic Pr., N. Y.

Alon, H., I. Katan, and N. Kedar. 1971. Factors influencing the degree of penetrance of resistance to Fusarium oxysporum f. lycopersici., race 1. Report of the Tomato Genet. Coop. 21: 13-14.

Akai, S. 1959. Histology of defense in plants, Vol. 1: 391-434. In: J. G. Horsfall and A. E. Dimond (eds). Plant pathology – an advanced treatise. Academic Pr., N. Y.

Ammati, M., I. J. Thompson, and H. E. Mckinney. 1985. Retention of resistance to Meloidogyne incognita in Lycopersicon genotypes at high soil temperature. pp. 69-82. In: Fresh Market Tomato Advisory Board, California, Fresh Market Tomato Research Program, 1984 / 85 Annual Report. Dinuba, California.

Andrus, C. F. 1953. Evaluation and use of disease resistance by vegetable breeders. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 61: 434-446.

Atkinson, H. J., P. E. Urwin, and M. J. McPherson. 2003. Engineering plants for nematode resistance. Ann. Rev. Phytopahol. 41: 615-639.

Audenaert, K., G. B. De Meyer, and M. M. Hofte. 2002. Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to Botrytis cinerea and suppresses salicylic acid-dependent signaling mechanisms. Plant Physiology 128(2): 491-501.

Bailey, J. A. 1982. Mechanisms of phytoalexin accumulation, pp 289-318. In: J. A. Bailey and J. W. Mansfield (eds). Phytoalexins. John Wiley & Sons, N. Y.

Bailey, J. A. and J. W. Mansfield (eds). 1982. Phytoalexins. John Wiley and Sons, N. Y. 334 p.

Bajaj, Y. P. S. 1990. Somaclonal variation – origin, induction, cryopreservation, and implications in plant breeding, pp. 3-48. In: Y. P. S. Bajaj. (ed.). Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. II. Somaclonal variation in crop improvement I. Springer – Verlag, Berlin.

Ball, E. M. 1961. Serological tests for the identification of plant viruses. The Americon Phytopathological Society. 16 p.

Barbour, J. D. 1999. Vegetable crops: search for arthopod resistance in genetic resources, pp. 171-189. In: S. L. Clement and S. S. Quisenberry (eds.). Global plant genetic resources for insect-resistant crops. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Barker, K. R. 1993. Resistance / tolerance and related concepts / terminology in plant nematology. Plant Dis. 77(2): 111-113.

Barker, H., K. D. Webster, C. A. Jolly, B. Reavy, A. Kumar, and M. A. Mayo. 1994a. Enhancement of resistance to potato leafroll virus multiplication in potato by combining the effects of host genes and transgenes. Molecular Plant-Microbe Interactions 7(4): 528-530.

Barker, H., R. M. Solomon-Blackburn, J. W. McNicol, and J. E. Bradshaw. 1994b. Resistance to potato leaf roll virus multiplication in potato is under major gene control. Theoretical and Applied Genetics 88(6/7): 754-758.

Basandari, A. K. and D. Basandari. 2000. Techniques in breeding for disease resistance, pp. 304-343. In: S. K. Gupta (ed). Plant breeding: theory and techniques. Agrobios (India), Jodhpur.

Beachy, R. N., S. Loesch-Fries, and N. E. Tumer. 1990. Coat protein-mediated resistance aganist virus infection. Ann. Rev. Phytopath. 28: 451-474.

Beak, S. D. 1965. Resistance of plants to insects. Ann. Rev Entomol. 10: 207-232.

Beckman, K. B. and D. S. Ingram. 1994. The inhibition of the hypersensitive response of potato tuber tissues by cytokinins: similarities between senescence and plant defence responses. Physiological and Molecular Plant Pathology 45(3): 229-246.

Benhamou., N., D. Mazau, and M. T. Esquerré-Tugayé. 1990. Immunocytochemical localization of hydroxyproline- rich glycoproteins in tomato root cells infected by Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici: study of compatible interaction. Phytopathology 80: 163-173.

Benhamou, N., D. Mazau, J. Grenier, and M. T. Esquerré-Tugayé. 1991. Time-course study of the accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in root cells of susceptible and resistant tomato plants infected by Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici. Planta 184(2): 196-208.

Bennett, C. W. 1967. Plant viruses: transmission by dodder, Vol. I: 393-401. In: K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virology. Academic Pr., N. Y.

Bent, A. F. and I. C. Yu. 1999. Applications of molecular biology to plant disease and insect resistance. Adv. Agron. 66: 251-298.

Bergelson, J., J. Winterer, and C. B. Purrington. 1999. Ecological impacts of transgenic crops, pp. 325-343.

Berry, S. Z., G. G. Madumadu, M. R. Uddin, and D. L. Coplin. 1989. Virulence studies and resistance to Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis in tomato germplasm. Hort Science 24: 362-365.

Birch, P. R. J., A. O. Avrova, A. Dellagi, C. Lacomme, S. Santa Cruz, and G. D. Lyon. 2000. Programmed cell death in plants in response to pathogen attack, pp. 175-197. In: M. Dickinson and J. Beynon (eds.). Molecular plant pathology. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Birkett, C. 1979. Heredity development and evolution. Macmillan Education Ltd., London. 202 p.

Bjorling, K. 1966. Virus resistance problems in plant breeding. Acta Agr. Scandinavica, Suppl. 16: 119-136.

Blaker, N. S. and J. D. Hewitt. 1987. Comparison of seeding and mature plant resistance to Phytopthora parasitica in tomato. HortScience 22: 103-105.

Boerma, H. R. and R. S. Hussey. 1992. Breeding plants for resistance to nematodes. J. Nematol. 24 (2): 242-252.

Boller, T. and F. Meins. (eds.). 1992. Genes involved in plant defense. Springer-Verlag / Wien, N. Y.

Boorsma, A. A. 1980. Variability in Vicia faba for resistance to Orobanche crenata. FAO Plant Prot. Bull. 28 (1): 39-42.

Booy, G., T. C. Wehner, and S. F. Jenkins, Jr. 1987. Resistance of cucumber lines to Rhizoctonia solani damping-off: not related to fruit rot resistance. HortScience 22: 105-108.

Bos, L. 1967. Graft transmission of plant viruses, Vol 1: 403-410. In: K. Maramorosch and H. Koprowski. Methods in virology. Academic Pr., N. Y.

Bos, L. and J. E. Parlevliet. 1995. Concepts and terminology on plant / pest relationships: toward consensus in plant pathology and crop protection. Ann. Rev. Phytopathol. 33: 69-102.

Bosland, P. W. and P. H. Williams. 1987. Sources of resistance to Fusarium oxysporum f. sp conglutinans race 2. HortScience 22: 669-670.

Bosland, P. W., P. H. Williams, and R. H. Morrison. 1988. Influence of soil temperature on the expression of yellows and wilt of crucifers by Fusarium oxysporum. Plant Dis. 72: 777-780.

Brar, D. S. and S. M. Jain. 1998. Samaclonal variaton: mechanism and applications in crop improvement, pp. 15-37. In: S. M. Jain, D. S. Brar, and B. S. Ahloowalia (eds.). Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherands.

Briggs, F. N. and P. F. Knowles. 1967. Introduction to plant breeding. Reinhold Pub. Co., N. Y. 426 p.

Broglie, R. and K. Broglie. 1993. Chitinase gene expression in transgenic plants: a molecular approach to understanding plant defense responses. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences 342(1301): 265-270.

Broglie, R. and K. Broglie. 1994. Chitinase gene expression in transgenic plants: a molecular approach to understanding plant defence responses, pp. 77-82. In: M. W. Bevan., B. D. Harrison, and C. J. Leaver. (eds.). The production and uses of genetically transformed plants. Chapman & Hall Ltd., London.

Brown, D. J. F., W. M. Robertson, and D. L. Trudgill. 1995. Transmission of viruses by plant nematodes. Ann. Rev. Phytopathol. 33: 223-249.

Browing, J. A. and K. J. Frey. 1969. Multiline cultivars as a means of disease control. Ann. Rev. Phytopathol. 7: 355-382.

Buddenhagen, I. W. 1981. Conceptual and practical considerations when breeding for tolerance or resistance, pp. 221-234. In R. C Staples and G. H. Toenniessen (eds). Plant disease control: resistance and suscebtibility. John Wiley & Sons, N. Y.

Bullard, R. W. and J. O. York. 1985. Breeding for bird resistance in sorghum and maize, Vol. 1: 193-222. In: G. E. Russell (ed). Progress in plant breeding. Butterworth & Co., London.

Butcher, D. N. 1980. The culture of isolated roots, pp. 13-17. In: D. S. Ingram and J. P. Helgeson (eds). Tissue culture methods for plant pathologists. Blackwell Scientific Publications. Oxford, UK.

Campbell, R. N. 1996. Fungal transmission of plant viruses. Ann. Rev. Phytopathol. 34: 87-108.

Castagnone-Sereno, P. 2002. Genetic variability of nematodes: a threat to the durability of plant resistance genes? Euphytica 124: 193-199.

Cervone, F., M. G. Hahn, G. de Lorenzo, A. Darvill, and P. Albersheim. 1989. Host-pathogen interactions. XXXIII. A plant protein converts a fungal pathogensis factor into an elicitor of plant defense responses. Plant Physiol. 90: 542-548.

Chada, K. C. and B. H. MacNeil, 1969. An antiviral principle from tomatoes systemically infected with tobacco mosaic virus. Can. J. Bot. 47: 513-518.

Chahal, G. S. and S. S. Gosal. 2002. Principles and procedures of plant breeding. Alpha Science International Ltd., Pangbourne, UK. 604 p.

Charron, C. S., C. E. Sams, and C. H. Canaday. 2002. Impact of glucosinolate content in broccoli (Brassica oleracea Italic group) on growth of Pseudomonas marginalis a causal agent of bacterial soft rot. Plant Disease 86 (6): 629-632.

Chawla, H. S. 2000. Introduction to plant biotechnology, Science Publishers, Inc., New Hampshire. 368 p.

Childress, A. M. and D. C. Ramsdell. 1987. Bee-mediated transmission of blueberry leaf mottle virus via infected pollen in highbush blueberry. Phytopathology 77 (2): 167-172.

Chilton, S. 1997. Genetic engineering of plant secondary metabolism for insect protection, pp. 237-269. In: N. Carozzi and M. Koziel (eds.). Advances in insect control: The role of transgenic plants. Taylor & Francis Ltd., London.

Chrispeels, M. J. and D. E. Sadava. 2003. Plants, genes, and crop biotecnology. (2nd ed.). American Society of Plant Biologists, Boston. 562 p.

Chopra, V. L., V. S. Malik, and S. R. Bhat. 1999. (eds.). Applied plant biotechnology. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA. 384 p.

Clerjeau, M., H. Laterrot, H. Lecoq, and M. Pitrat. 1981. Current trends in the breeding of resistant vegetable varieties. (In French). Agronomie 1: 41-48.

CMI, Commonwealth Mycological Institute. 1983. Plant pthologist's pocketbook. Commonwealth Agricultural Bureau, Kew Surrey, England. 439 p.

Cook, R. and G. R. Noel. 2002. Cyst nematodes: Globodera and Heterdera species, pp. 71-105. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge. (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Cooking, E. C. and R. Riley. 1981. Application of tissue culture and somatic hybridization to plant improvement, pp. 85-116. In: K. J. Frey (ed.). Plant breeding II. The Iowa State university Press, Ames, Iowa.

Colhoun, J. 1973. Effects of environmental factors on plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 343-364.

Coons, G. H. 1953. Breeding for resistance to disease, pp. 174-192. In: Plant disease – the yearbook of agriculture. U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C.

Corbin, D. R., J. T. Greenplate, and J. P. Purcell. 1998. the identification and development of proteins for control of insects in genetically modified crops. 1998. HortScience 33(4): 614-617.

Costa, A. S. 1976. Whitefly-transmitted plant diseases. Ann Rev. Phytopath. 14: 429-449.

Costa, C. P. da and C. M. Jones. 1971. Cucumber beetle resistance and mite susceptibility controlled by the bitter gene in Cucumis sativus L. Science 172: 1145-1146.

Coxon, D. T. 1982. Phytoalexins from other families, pp: 106-132. In: J. A. Bailey and J. W. Mansfield (eds). Phytoalexins. John Wiley & Sons, N. Y.

Coyne, D. P. and M. L. Schuster. 1983. Genetics of and breeding for resistance to bacterial pothogens in vegetable crops. HortScience 18: 30-36.

Crill, P. 1977 An assessment of stabilizing selection in crop variety development. Ann. Rev. Phytopathol. 15: 185-202.

Crill, P. and J. P. Jones. 1972. Controlling fusarium wilt of tomato with resistant varieties. Plant Dis. Reptr. 56: 695-699.

Crill, J., J. P. Jones, D. S. Burgis, and J. W. Strobel. 1971. Development of multiple disease-resistant fresh market tomato varieties adapted for machine harvest. (Abstr.) Phytopathology 61: 888-889.

Crill, P., J. P. Jones, and D. S. Burgis. 1973. Failure of "horizontal resistance" to control fusarium wilt of tomato. Plant Dis. Reptr. 57: 119-121.

Cruickshank, I. A. M. 1963. Phytoalexins. Ann. Rev. Phytopathol. 1: 351-374.

Cruickshank, I. A. M. 1965. Pisatin studies, the relation of phytoalexins to disease reaction in plants, pp. 325-336. In K. F. Baker et al. (eds). Ecology of soil-borne plant pathogens; prelude to biological control. Univ. Calif. Press, Berkely.

Cruckshank, I. A. M. 1980. Defense triggered by the invador: chemical defenses, Vol V: 247-267. In: J. G. Horsfall and E. B. Cowling (eds). Plant disease: an advanced treatise Academic Pr., N. Y.

Cruickshank, I. A. M. and D. R. Perrin. 1963. Phytoalexins of the leguminosae. Phaseolin from Phaseolus vulgavis L. Life Sci. 9: 680-682.

Crute, I. R., E. B. Holub, and J. J. Burdon. 1997. The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK. 427 p.

Cubero, J. I., A. H. Pieterse, S. A. Khalil, and J. Sauerborn. 1994. Screening techniques and sources of resistance to parasitic angiosperms. Euphytica 73: 51-58.

Cutt, J. R. and D. K. Klessig. 1992. Pathogensis-related proteins, pp. 209-243. In: T. Boller and F. Meins (eds.). Genes involved in plant defense. Springer- Verlag / Wien, N. Y.

Czapla, T. 1997. Plant lectins as insect control proteins in transgenic plants, pp. 123-138. In: N. Carozzi and M. Koziel (eds.). Advances in insect control: The role of transgenic plants. Taylor & Francis Ltd., London.

Daly, J. M. and H. W. Knoche. 1982. The Chemistry and biology of pathotoxins exhibiting host- selectivity. Adv. Plant Pathol. 1: 83-138.

Daniel, M. and R. P. Purkayastha (eds.). 1995. Handbook of phytoalexin metabolism and action. Marcel Dekker, Inc., NY. 615 p.

Darrow, G. M. 1966. The Strawberry: history, breeding and physiology. Holt, Rinehart and Winston, N. Y. 447 p.

Daub, M. E. 1984. A cell culture approach for the development of disease resistance: studies on the phytotoxin cercosporin. HortScience 19: 382-387.

Daubeny, H. A. 1983. Insects, mite, and nematode resistance, pp. 216-241. In: J. N. Moore and J. Janick. (eds). Methods in fruit breeding. Purdue Univ. Pr., West Lafayette, Indiana.

Day, P. R. 1974. Genetics of host-parasite interaction. S. Chard & Co. Ltd. Ram, Nagar, New Delhi. 238 p.

Day, P. R. 1992. Plant pathology and biotecnology: choosing your weapons. Ann. Rev. Phytopathol. 30: 1-13.

Dayton, D. F., R. L. Bell, and E. B. Williams. 1983. Disease resistance, pp 189-215. In: J. N. Moore and J. Janick (eds). Methods in fruit breeding. Purdue Univ. Pr., West Lafayette, Indiana.

De Lorenzo, G., R. D'Ovidio, and F. Cervone. 2001. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (Pgips) in defence against pathogenic fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 39: 313-335.

De Ponti, O. M. B. and C. Mollema. 1992. Emerging breeding strategies for insect resistance, pp. 323-346. In: H. T. Stalker and J. P. Murphy (eds). Plant breeding in the 1990s. CAB International, Wallingford, UK.

De Ponti, O. M. B., L. R. Romanow, and M. J. Berlinger. 1990. Whitefly-plant relationships: plant resistance, pp. 91-106: In: D. Gerling (ed.). Whiteflies: their bionomics, pest status and management. Intercept Ltd, Andover, Hants, UK.

Deverall, B. J. 1977. Defense mechanisms of plants. Cambridge Univ. Pr., London. 110 p.

De Waele, D. and A. Elsen. 2002. Migratory endoparasites: Pratylenchus and Radopholus species, pp. 175-206. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

De Wit, P. J. G. M. 1992. Molecular characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 30: 391-418.

De Wit, P. J. G. M. 1995. Fungal avirulence genes and plant resistance genes: unraveling the molecular basis of gene-for-gene interactions. Advances in Botanical Research 21: 147-185.

Dhingra, O. K. and J. B. Sinclair. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Dickinson, M. 2003. Molecular plant pathology. BIOS Scientific Publishers, London. 244 p.

Dickson, M. H. and J. E. Hunter. 1987. Inheritance of resistance in cabbage seedings to black rot. HortScience 22: 108-109.

Dixon, R. A. 1980. Plant tissue culture methods in the study of phytoalexin induction, pp 185-196. In: D. S. Ingram and J. P. Helgeson (eds). Tissue culture methods for plant patholoigsts. Blackwell Sci. Pub., Oxford.

Dixon, G. R. 1981. Vegetable crop disease. Avi Pub. Co., Inc., Westport, Connecticut. 404 p.

Dixon, G. R. 1984. Plant pathogens and their control in horticulture. Macmillan, London. 253 p.

Donald, C. R., D. J. Hagedorn, and P. H. Williams. 1995. John Charles Walker, 1983 to 1994. Phytopathology 85: 636.

Dropkin, V. H. 1980. Introduction to plant nematology. John Wiley & Sons, N. Y. 293 p.

Duncan, D. R., D. Hammond, J. Zalewski, J. Cudnohufsky, W. Kaniewski, M. Thornton, J. T. Bookout, P. Lavrik, G. J. Rogan, and J. Feldman-Riebe. 2002. Field performance of transgenic potato, with resistance to Colorado potato beetle and viruses. HortScience 37(2): 275-276.

Durbin, R. D. 1981. Applications, pp. 495-505. In: R. D. Durbin (ed.). Toxins in plant disease. Academic Pr., N. Y.

Durbin, R. D. (ed.). 1981. Toxins in plant disease. Academic Pr., N. Y. 515 p.

Earle, E. D. and V. E. Gracen. 1981. The role of protoplasts and cell cultures in plant disease research, pp. 285-297. In: R. C. Staples and G. H. Toenniessen (eds.) Plant disease control: resistance and susceptibility. Wiley, N. Y.

Ebel, J. and D. Scheel. 1992. Elicitor recognition and signal transduction, pp. 183-205. In: T. Boller and F. Meins (eds.). Genes involved in plant defense. Springer- Verlag / Wien, N. Y.

Fassuliotis, G. 1985. The role of the nematologist in the development of resistant cultivars, pp. 233-240. In: J. N. Sasser and C. C. Carter (eds.). An advanced treatise on Meloidogyne. Vol. 1. Biology and control. Department of Plant Pathology, North Carolina State University, Raleigh, N. C.

Fassuliotis, G. 1990. Somaclonal variation for nematode resistance, pp. 258-268. In: P. S. Bajaj (ed.). Biotechnology in agriculture and forestry. Vol. 11. Somaclonal variation in crop improvement. Springer-Verlag, Berlin.

Fassulitotis, G., J. R. Deakin, and J. C. Hoffman. 1970 Root-knot nematode resistance in snap beans: breeding and nature of resistance. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 640-645.

Federation of British Plant Pathologists, the Terminology Sub-committee. 1973. A guide to the use of terms in plant pathology. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surrey, England. Phytopathological Papers No. 17. 55 p.

Fehr, W. R. 1987. Principles of cultivar development: Vol. 1. Theory and technique. Macmillan Pub. Co., N. Y. 536 p.

Feng, D. X., L. Deslandes, H. Keller, F. Revers, B. Favery, P. Lecomte, J. Hirsch, J. Olivier, and Y. Marco. 2004. Isolation and characterization of a novel Arabidopsis thaliana mutant unable to develop wilt synptoms after inoculation with a virulent strain of Ralstonia solanacearum. Phytopathology 94: 289-295.

Fery, R. L. and G. G. Kennedy. 1987. Genetic analysis of 2-tridecanone concentration, leaf trichome characteristics, and tobacco hornworm resistance in tomato. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112: 886-891.

Fletcher, J. T. 1984. Diseases of greenhouse plants. Longman, London. 351 p.

Flor, H. H. 1971. Current Status of the gene-for-gene concept. Ann. Rev. Phytopathol. 9: 275-296.

Fraser, R. S. S. 1990. The genetics of resistance to plant viruses. Ann. Rev. Phytopathol. 28: 179-200.

Fraser, R. S. S. 1992. The genetics of plant-virus interactions: implications for plant breeding. Euphytica 63: 175-185.

Frey. K. J. 1982. Multilne breeding, pp. 43-71. In: I. K. Vasil., W. R. Scowcroft, and K. J. Frey (eds). Plant improvement and somattic cell genetics. Academic Pr., N. Y.

Gallun, R. L. and G. S. Kush. 1980. Genetiic factors affecting expression and stability of resistance, pp. 63-85. In: F. G. Maxwell and P. R. Jennings (eds). Breeding plants resistant to insects. Wiley, N. Y.

Galun, E., D. Aviv, Y. Mahler-Slasky, S. Galili, A. Perl, R. Aly, and S. Wolf. 1997. Defense against pathogenic bacteria in transgenic potato plants. Acta Horticulturae No. 447: 423-429.

Garcia-Olmedo, F., M. J. Carmona, J. J. Lopez-Fando, J. A. Fernandez, A. Castagnaro, A. Molina, C. Hernandez-Lucas, and P. Carbonero. 1992. Characterization and analysis of thionin genes, pp. 283-302. In: T. Boller and F. Meins (eds.). Genes involved in plant defense. Springer- Verlag / Wien, N. Y.

Gardner, H. W., A. E. Desjardins, S. P. McCormick, and D. Welsleder. 1994. Detoxification of the potato phytoalexin rishitin by Gibberella pulicaris. Phytochemistry 37(4): 1001-1005.

Gatehouse, J. A. 1991. Breeding for resistance to insects, pp. 250-276. In: D. R. Murray (ed.). 1991. Advanced methods in plant breeding and biotechnology. CAB International, Wallingford, UK.

Gatehouse, A. M. R. 1999. Biotechnological applications of plant genes in the production of insect-resistant crops, pp. 263-280. In: S. L. Clement and S. S. Quisenberry (eds.). Global plant genetic resources for insect-resistant crops. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Gatehouse, A. M. R., V. A. Hilder, and D. Boulter (eds.). 1992. Plant genetic manipulation for crop protection. CAB International, Wallingford, UK. 266 p.

Gatehouse, A. M. R., D. Boulter, and V. A. Hilder. 1992. Potential of plant-derived genes in the genetic manipulation of crops for insect resistance, pp. 155-181. In: A. M. R. Gatehouse, V. A. Hilder, and D. Boulter (eds.). 1992. Plant genetic manipulation for crop protection. CAB International, Wallingford, UK.

Gibbs, A. and B. Harrison. 1976. Plant virology: the principles. Edward Arnold, London. 292 p.

Giebel, J. 1982. Mechanisms of resistance to plant nematodes. Ann. Rev. Phytopathol. 20:257-279.

Gilbert, J. C. and N. Mohanakumaran. 1969. High tomatine tomato breeding lines. Veg. Improv. Newsletter 11: 6.

Goffreda, J. C., J. C. Steffens, and M. A. Mutschler. 1990. Association of epicuticular sugars with aphid resistance in hybrids with wild tomato. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115: 161-165.

Goode, M. J., T. E. Morelock and J. L. Bowers. 1988. 'Fall Green' spinach. HortScience 23: 931.

Goodey, J. B. 1963. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Minist. Agric., Fish. & Food, Tech. Bul. No. 2. 72 p. Her Majesty's Stationary Office, London.

Gopalan, S. and S. Y. He. 1996. Bacterial genes involved in the elicitation of hypersensitive response and pathogensis. Plant Dis. 80(6): 604-610.

Green, S. K. 1984. Guidelines for diagostic work in plant virology. The Asian Vegetable Research and Development Center, Shanhua, ROC. Tech. Bul. No. 15. 39 p.

Greenleaf, W. H. 1986. Pepper breeding, pp. 67-134. In: M. J. Bassett (ed.). Breeding vegetable crops. Avi Pub Co., Inc., Westport, Connecticut.

Grumet, R. 1990. Genetically engineered plant virus resistance. HortScience 25(5): 508-513.

Grumet, R. 1995. Genetic engineering for crop virus resistance. HortScience 30(3): 449-445.

Hadisoeganda, W. W. and J. N. Sasser. 1981. Resistance of tomato, bean, southern pea and garden pea cultivars to root knot nematodes based on host suitability. Plant Dis. 66: 145-150.

Hall, R. (ed.). 1991. Compendium of bean diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota 73 p.

Hallahan, D. L., J. A. Pickett, L. J. Wadhams, R. M. Wallsgrove, and C. M. Woodcock. 1992. Potential of secondary metabolites in genetic engineering of crops for resistance, pp. 215-248. In: A. M. R. Gatehouse, V. A. Hilder, and D. Bolulter (eds.). Plant genetic manipulation for crop protection. CAB International, Wallingford, UK.

Hamamoto, H., Y. Watanabe, H. Kamada, and Y. Okada. 1997. A single amino acid substitution in the virus-encoded replicase of tomato mosaic tabamovirus alters host specificity. Molecular Plant-Microbe Interactions 10(8): 1015-1018.

Hanna, G. C., A. G. Gentile, and K. A. Kimble. 1961. An improved method for determining resistance to Fusarium stem rot of sweetpotatoes. Plant. Dis. Reptr: 45: 562-563.

Harris, M. K. (ed.). 1980. Biology and breeding for resistance to Arthopods and pathogens in agricultural plants. Texas Agric. Exp. Sta., College Station. 605 p.

Harrison, A. L. 1960. Breeding of disease resistant tomatoes with special emphasis on resistance to nematodes, pp 57-75. In: Campbell Soup Company; Proceedings of plant science seminar. Camden, NJ.

Harrison. B. D. 2002. Virus variation in relation to resisrance-breaking in plants. Euphytica 124: 181-192.

Hassan, A. A. 1966. The application of the cotyledonary method of inoculation with Corynebacterium michiganense in screening for resistance and in host range studies. M. S. Thesis., N.C. State Univ. at Raleigh. 79 p.

Hassan, A. A. and K. E. Abdel-Ati. 1986. Assessment of broomrape tolerance in the genus Lycopersicon. Egypt. J. Hort 13: 153-157.

Hassan, S. and P. E. Thomas. 1988. Extrane resistance to tomato yellow top virus and potato leaf roll virus in Lycopersicon peruvianum and some of its tomato hybrids. Phytopathology 78: 1164-1167.

Hassan, A. A., D. L. Strider, and T. R. Konsler. 1968. Application of cotyledonary symptoms in screening for resistance to tomato bacterial canker and in host range studies. Phytopathology 58: 233-239.

Hassan, A. A., D. H. Wallace, and R. E. Wilkinson. 1971a. Genetics and heritability of resistance to Fusarium solani f. phaseoli in beans. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96: 623-627.

Hassan, A. A., R. E. Wilkinson, and D. H. Wallace. 1971b. Genetics and Heritability of resistance to Thielaviopsis basicola in beans. J. Amer. Soc. Sci. 96: 628-630.

Hassan, A. A., H. M. Mazyad, S. E. Moustafa, S. H. Nassar, W. L. Sims and M. K. Nakhla. 1984. Genetics and heritability of tomato yellow leaf curl virus tolerance derived form Lycopersicon pimpinellifolium. Proc 2nd Mediterranean Conf. Genet., Cairo: 383-398.

Hassan, A. A., U. A. Obaji, M. S. Wafi, N. E. Quronfilah, H. H. A1-Masry, and M. A. E1-Rays. 1990. Evaluation of domestic and wild Cucumis melo germplasm for resistance to the yellow stunting stunting disorder. Egypt. J. Hort. 17: 181-199.

Hassan, A. A., N. E. Quronfilah, U. A. Obaji, M. A. El-Rays, and M. S. Wafi. 1991a. Evaluation of domestic and wild Citrullus germplasm for resistance to the yellow stunting disorder. Egypt. J. Hort. 18: 11-21.

Hassan, A. A., M. S. Wafi, N. E. Quronfilah, U. A. Obaji, M. A. El-Rays, and F. Al-Izabi. 1991b. Evaluation of domestic and wild Lycopersicon germolasm for tomato yellow leaf curl virus resistance. Egypt. J. Hort. 18: 23-43.

Hawkes, J. G. 1990. The potato evolution, biodiversity and genetic resources. Behlaven Press, London. 259 p.

Hedin, P. A. (ed.). 1983. Plant resistance to insects. American Chemical Soc., Wash., D. C. 373 p.

Helal, R. M. E. 1976. Genetical and physiological studies on the nature of resistance to Fusarium wilt in watermelon and related species. Ph. D. Thesis, Ain Shams Univ. 56 p.

Hilder, V. A., A. M. R. Gatehouse, and D. Boulter. 1990. Genetic engineering of crops for insect resistance using genes of plant origin, pp. 51-66. In: G. W. Lycett and D. Grierson. Genetic engineering of crop plants. Butterworths, London.

Hill, S. A. 1984. Methods in plant virology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, 167 p.

Hooker, A. L. 1967. The genetics and expression of resistance in plants to rusts of the genus Puccinia. Ann. Rev. Phytopathol. 5: 163-182.

Horsfall, J. G. and E. B. Cowling (eds.). 1980. Plant disease: an advanced treatise. Vol V: How plants defend themselves. Academic Pr., N. Y. 534 p.

Hulbert, S. H., C. A. Webb, S. M. Smith, and Q. Sun. 2001. Resistance gene complexes: evolution and utilization. Ann Rev. Phytopathol. 39: 285-312.

Hull, R. 2002. Matthew's plant virology. Academic Press, San Diego, California. 1001 p.

Hussey, R. S. and G. J. W. Janssen. 2002. Root knot nematodes: Meloidogyne species, pp. 43-70. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Hutcheson, S. W. 1998. Current concepts of active defense in plants. Ann. Rev. Phytopathol. 36: 59-90.

Iezzoni, A. F. and C. E. Peterson. 1980. Linkage of bacterial wilt resistance and sex expression in cucmber. HortScience 15: 257-258.

Ilott, T. W., M. E. Durgan, and R. W. Michelmore. 1988. Genetics of virulence in California populations of Bremia lactucae (lettuce downy mildew). Phytopathology 77: 1381-1386.

Ingham, J. L. 1982. Phytoalexins from the Leguminosae, pp. 21-80. In: J. A. Bailey and J. W. Mansfield (eds.). Phytoalexins. John Wiley & Sons, N. Y.

Inglis, D. A., D. J. Hagedorn, and R. E. Rand. 1988. Use of dry inoculation to evaluate beans for resistance to anthracnose and angular leaf spot. Plant Dis. 72: 771-774.

Innes, N. L. 1992. Gene banks and their contribution to the breeding of disease resistant cultivars. Euphytica 63: 23-31.

Ishimoto, M., T. Sato, M. J. Chrispeels, and K. Kitamura. 1996. Bruchid resistance of transgenic azuki bean expressing seed α-amylase inhibitor of common bean. Entomologic Experimentalis et Applicata 79(3): 309-315.

Ish-Shalom-Gordon, N., R. Jacobsohn, and Y. Cohen. 1993. Inheritance of resistance to Orobanche cumana in sunflower. Phytopathology 83: 1250-1252.

Jain, S. M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. Euphytica 118: 153-166.

Jamwal, R. S. and P. P. Sharma. 1986. Inheritance of resistance to black rot (Xanthomonas campestris pv. campestris) in cauliflower (Brassica oleracea var. botrytis). Euphytica 35: 941-943.

Jayasankar, S. 2005. Variation in tissue culture, pp. 301-309. In: R. N. Trigiano and D. J. Gray (eds.). Plant development and biotechnology. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Jenkins, J. N. 1981. Breeding for insect resistance, pp. 291-308. In: K. J. Frey (ed.). Plant breeding II. The Iowa State Univ. Pr., Ames.

Johnson, R. 1983. Genetic background of durable resistance, pp. 5-24. In: F. Lamberti, J. M. Waller, and N. A. Van der Graaff (eds.). Durable resistance in crops. Plenum Pr., N. Y.

Jones, A. 1969. Quantitative inheritance of fusarium wilt resistance in sweetpotatoes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94: 207-208.

Jones, D. A. 2000. Resistance genes and resistance protein function, pp. 108-143. In: M. Dickinson and J. Beynon (eds.). Molecular plant pathology. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Jones, H. A. and L. K. Mann. 1963. Onions and their allies. Interscience Pub. Inc., N. Y. 286 p.

Jones, A., P. D. Dukes, and J. M. Schalk. 1986. Sweet potato breeding, pp. 1-35. In: M. G. Bassett (ed.). Breeding vegetable crops. Avi Pub. Co., Inc., Westport, Connecticut.

Jongedijk, E., H. Tigelaar, S. C. van Roekel, S. A. Bres-Vloemans, I. Dekker, P. J. M. van den Elzen, J. C. Cornelissen, and L. S. Melchers. 1995. Synergistic activity of chitinases and β-1,3-glucanases enhances fungal resistance in transgenic tomato plants. Euphytica 85(1/3): 173-180.

Kadd, C. I. and H. O. Agrawal (eds.). 1972. Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y. 688 p.

Kalloo, 1988. Vegetable breeding. Vol. II. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 213 p.

Kasrawi, M. A. and B. E. Abu-Irmaileh. 1989. Resistance to branched broomrape (Orobanche ramosa) in tomato germplasm. HortSeience 24: 822-824.

Katsui, N., A. Murai, M. Takasugi, K. Imaizumi, and T. Masamune. 1968. The structure of Rishitin, a new antifungal compound from diseased potato tubers. Chem. Communications, 1968: 43-44.

Kaushal, R. P. and B. N. Singh. 1991. Extra-chromosomal inheritance of resistance in adzuki bean (Vigna angularis (Willd). Ohwi & Ohashi) to Erysiphe polygoni D. C. Legume Research 14(2): 99-100.

Kavanagh, T. A. and C. Spillane. 1995. Strategies for engineering virus resistance in transgenic plants. Euphytica 85: 149-158.

Keen, N. T. 1981. Evaluation of the role of phytoalexins. pp. 155-177. In: R. C. Staples and G. H. Toenniessen (eds). Plant disease control: resistance and susceptibility. John Wiley & Sons, N. Y.

Kerr, E. A. 1983. Breeding for stable resistance to disease. HortScience 18: 27-29.

King, G. J. 1990. Molecular genetics and breeding of vegetable brassicas. Euphytica 50: 97-112.

Kiraly, Z., Z. Klement, F. Solymosy, and J. Voros. 1974. Methods in plant pathology with special reference to breeding for disease resistance. Elsevier Sci. Pub. Co., London. 509 p.

Klarman, W. L. and F. Hammerschlag. 1972. Production of the phytoalexin, hydroxyphaseollin, in soybean leaves inoculated with tobacco necrosis virus. Phytopathology 62: 719-721.

Klement, Z. and R. N. Goodman. 1967. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. Ann. Rev. Phytopathol. 5: 17-44.

Knogge, W. and C. Marie. 1997. Molecular characterization of fungal avirulence, pp. 329-346. In: I. R. Crute, E. B. Holub, and J. J. Burdon (eds.). The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK.

Knott, D. R. and J. Dovark. 1976. Alien germplasm as a source of resistance to disease. Ann. Rev. Phytopathol. 14: 211-235.

Kochba, J. and R. M. Samish. 1971. Effect of kinetin and 1-naphthylacetic acid on root-knot nematodes in resistant and suscebtible peach rootstocks. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96: 458-461.

Kombrink, E. and E. Schmelzer. 2001. The hypersensitive response and its role in local and systemic disease resistance. European Journal of Plant Pathology 107: 69-78.

Kombrink, E. and I. E. Somssich. 1995. Defense responses of plants to pathogens. Adv. Bot. Res. 21: 1-34.

Kooistra, E. 1971. Inheritance of fruit and skin colours in powdery mildew resistant cucumbers (Cucumis sativus L.). Euphytica 20: 521-523.

Kosuge, T. 1969. The role of phenolics in host response to infection. Ann. Rev. Phytopathol. 7: 195-222.

Koziel, M. G., N. B. Carozzi, and G. W. Warren. 1998. Transgenic plants for the control of insect pests, pp. 283-294. In: A. Altman (ed.). Agricultural biotechnology. Marcel Dekker, Inc., N. Y.

Kramer, K. J., S. Muthukrishnan, L. Johnson, and F. White. 1997. Chitinases for insect control, pp. 185-193. In: N. Carozzi and M. Koziel (eds.). Advances in insect control: the role of transgenic plants. Taylor & Francis Ltd., London.

Kreitlow, K. W. 1963. Infecting seven-day-old alfalfa seedings with bacteria through wounded cotyledons. Phytopathology 53: 803.

Kuć, J. 1972. Phytoalexins. Ann. Rev. Phytopathol. 10: 207-232.

Kuć, J. 1982. Phytoalexins from the solanaceae; pp. 81-105. In: J. A. Bailey and J. W. Mansfield (eds). Phytoalexins. John Wiley & Sons, N. Y.

Kuć, J. 1995. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. Ann. Rev. Phytopathol. 33: 275-297.

Kulkarni, R. N. and V. L. Chopra. 2000. Breeding for disease resistance, pp. 133-159. In: V. L. Chopra (ed.). Plant breeding: theory and practice (2nd ed.). Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.

Kush, G. S. 1992. Selecting rice for simply inherited resistances, pp. 303-322. In: H. T. Stalker and J. P. Murphy (eds.). Plant breeding in the 1990s. CAB International, Wallingford, UK.

Kuti, J. O. and T. J. Ng. 1989. Combining ability estimates for muskmelon tolerance to Myrothecium roridum and its toxic metabolite, Roridin E. J. Amer. Soc. Hort. Sci: 114: 319-321.

Laemmlen, F. F. and K. S. Mayberry. 1984. Broccoli resistance to downy mildew. Calif. Agr. 38(11/12): 17.

Lamberti, F., J. M. Walter and N. A. Van der Graaff (eds). 1983. Durable resistance in crops. Plenum Pr., N. Y. 454 p.

Lane, J. A. and J. A. Bailey. 1992. Resistance of cowpea and cereals to the parasitic angiosperm Striga. Euphytica 63: 85-93.

Lane, J. A., D. V. Child, G. C. Reiss, V. Entcheva, and J. A. Bailey. 1997. Crop resistance to parasitic plants, pp. 81-97. In: I. R. Crute, E. B. Holub, and J. J. Burdon (eds.). The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK.

Larkin, P. J. and W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation – a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. Theor. Appl. Genet. 60: 197-214.

Laterrot., H. 1985. Susceptibility of the (Pto) plants to Lebaycid insecticide: a tool for breeders? Tomato Genet. Coop. Rep. 35: 6.

Leach, J. E., C. M. Vera Cruz, J. Bai, and H. Leung. 2001. Pathogen fitness penalty as a predictor of durability of disease resistance genes. Ann. Rev. Phytopathol. 39: 187-224.

Legard, D. E. and C. K. Chandler. 2000. Cryopreservation of strawberry pathogens in a -95°C mechanical ultra-low temperature freezer. Hortscience 35(7): 1357.

Lelliott, R. A. and D. E. Stead. 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blackwell Sci. Pub., London. 216 p.

Lenné, J. M. and D. Wood. 1991. Plant diseases and the use of wild germplasm. Ann. Rev. Phytopathol. 29: 35-63.

Leone, G. and A. E. G. Tonneijck. 1990. A rapid procedure for screening the resistance of bean cultivars (Phaseolus vulgaris L.) to Botrytis cinerea and Sclerotinia sclerotiorum. Euphytica 48: 87-90.

Leppik, E. E. 1970. Gene centers of plants as sources of disease resistance. Ann. Rev. Phytopathol. 8: 323-344.

Li. R. G. and Y. L. Fan. 1999. Reduction of lesion growth rate of late blight plant disease in transgenic potato expressing harpin protein. Science in China Series C – life Sciences 42(1): 96-101.

Lindgren, P. B., N. J. Panopoulos, B. J. Staskawicz, and D. Dahlbeck. 1988. Genes required for pathogenicity and hypersensitivity are conserved and interchangeable among pathovars of Pseudomonas syringae. Mol. Gen. Genet. 211: 499-506.

Lindow, S. 1996. Theory and application of genetic engineering for stress resistance and avoidance. HortScience 31(1): 47-49.

Lorito, M., S. L. Woo, I. G. Fernandez, G. Colucci, G. E. Harman, J. A. Pintor-Toro, E. Filippone, S. Muccifora, C. B. Lawrence, A. Zoina, S. Tuzun, and F. Scale. 1998. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 95(14): 7860-7865.

Lower, R. L. and M. D. Edwards. 1986. Cucumber breeding, pp. 173-207. In: M. J. Bassett (ed.). Breeding vegetable crops. Avi Pub. Co., Inc., Westport, Connecticut.

Madamba, C. P., J. N. Sasser, and L. A. Nelson. 1965. Some characteristcs of the effects of Meloidogyne spp. on unsuitable host crops. N. C. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. 169. 34 p.

Malik, V. S. 1999. Biotechnology: multibillion dollar industry, pp. 1-69. In: V. L. Chopra, V. S. Malik, and S. R. Bhat (eds.). Applied plant biotechnology. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA.

Manners, J. G. 1982. Principles of plant pathology. Cambridge Univ. Pr., Cambridge. 264 p.

Mansfield, J. W. 1982. The role of phytoalexins in disease resistance. In: J. A. Bailey and J. W. Mansfield (eds). Phytoalexins. John Wiley & Sons, N. Y.

Mansfield, J., M. Bennett, C. Bestwick, and A. Woods-Tor. 1997. Phenotypic expression of gene-for-gene interaction involving fungal and bacterial pathogens: Variation from recognition to response, pp. 265-291. In: I. R. Crute, E. B. Holub, and J. J. Burdon (eds.). The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK.

Maramorosch, K. 1980. Insects and plant pathogens, pp. 137-155. In: F. G. Maxwell and P. R. Jennings (eds.). Breeding plants resistant to insects. Wiley, NY.

Maramorosch, K. and H. Koprowski. 1967. Methods in virology. Vol. 1. Academic Press, NY. 640 p.

Martin, J. T. 1964. Role of cuticle in the defense against plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 2: 81-100.

Maxwell, F. G. and P. R. Jennings (eds). 1980. Breeding plants resistant to insects. Wiley, N. Y. 683 p.

Maxwell, F. G., J. N. Jenkins, and W. L. Parrott. 1972. Resistance of plants to insects. Adv. Agron. 24: 187-265.

McDonald, B. A. and C. Linde. 2002. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. Euphytica 124: 163-180.

McKenry, M. V. and P. A. Roberts. 1985. Phytonematology study guide. Univ. Calif., Div. Agr. Nat. Resources. Pub. 4045. 56 p.

Medina Filho, H. P. and M. A. Stevens. 1980. Tomato breeding for nematode resistance: survey of resistant varieties for horticultural characteristics and genotypes of acid phosphates. Acta Hort. 100: 383-393.

Meins, F., Jr., J. M. Neuhaus, C. Sperisen, and J. Ryals. 1992. The primary structure of plant pathogenesis-related glucanohydrolases and their genes, pp. 245-282. In: T. Boller and F. Meins (eds.). Genes involved in plant defense. Springer- Verlag / Wien, N. Y.

Miller, E. 1966. And there was one: thirty years and the elm tree. Cornell countryman 63(7): 5.

Miller, W. A., G. Koev, and B. R. Mohan. 1997. Are there risks associated with transgenic resistance to luteoviruses. Plant Disease 81(7): 700-710.

Mohammed, M. A., A. Hassan, I. I. Oksh, and R. Hilal. 1981. Nature of resistance to Fusarium wilt in watermelon. Egypt. J. Hort. 8: 1-21.

Mora, A. A. and E. D. Earle. 2001. resistance to Alternaria brassicicola in transgenic broccoli expressing a Trichoderma harziaum endochitinase gene. Molecular Breeding 8(1): 1-9.

Mount, M. S. and P. M. Berman. 1994. Genetic manipulation of plants to improve psotharvest disease resistance. HortScience 29(7): 762-768.

Muller, K. O. 1959. Hypersensitivity, Vol. 1: 469-519. In: J. G. Horsfall and A. E. Dimond (eds). Plant pathology – an advanceed treatise. Academic Pr., N. Y.

Muller, K. O. 1961. The Phytoalexin concept and its methodological significance. Recent Adv. Bot., I. 396-400. Univ of Toronto Pr., Toronto.

Mundt, C. C. 2002. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease mansgement. Ann. Rev. Phytopathol. 40: 381-410.

Mutschler, M. A. 1988. Dedication: Henry M. Munger: vegetable breeder and educator. Plant Breed. Rev. 4: 1-8.

Nascari, G. and C. Montanelli. 1997. The genetic engineering approach for the control of plant diseases, pp. 89-111. In: R. K. Upadhyay and K. G. Mukerji (eds.). Toxin in plant disease development and evolving biotechnology. Science Publishers, Inc., Enfield, New Hampshire, USA.

Nazeem. H. R. 1973. Inheritance of resistance to mosaic virus in tomato. Ph. D. Thesis, Ain Shams Univ. 66 p.

Nelson, R. R. (ed.) 1973. Breeding plants for disease resistance: concepts and applications. Penn. State Univ. Prss, University Park.

Nicholson, R. L. and R. Hammerschmidt. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. Ann. Rev. Phytopathol. 30: 369-389.

Nicks, R. E. and D. Rubiales. 2002. Potentially durable resistance mechanisms in plants to specialised fungal pathogens. Euphytica 124: 201-216.

Noordam, D. 1973. Identification of plant viruses: methods & experiments. Centre for Agr. Pub. and Doc., Wageningen. 207 p. plus colored plates.

Norris, D. M. and M. Kogan. 1980. Biochemical and morphological basis of resistance, pp. 23-61. In: F. G. Maxwell and P. R. Jennings (ed.). Breeding plants resistant to insects. Wiley, N. Y.

Oitto, W. A., T. van der Zwet, and H. J. Brooks. 1970 Rating of pear cuitivars for resistance to fire blight. HortScience 5: 474-476.

Okada, K., S. Kusakari, M. Kawaratani, J. Negoro, S. T. Ohki, and T. Osaki. 2000. Tobacco mosaic virus is transmissible from tomato to tomato by pollinating bumblebees. Journal of General Plant Pathology 66(1): 71-74.

Oku, H. 1994. Plant pathogensis and disease control. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. 193 p.

Oldroyd, G. E. D. and B. J. Staskawicz. 1998. Genetically engineered broad-spectrum disease resistance in tomato. Proc. Nat. Aca. Sci. U. S. 95(17): 10300-10305.

Omwega, C. O., I. J. Thomason, and P. A. Roberts. 1988. A nondestructive technique for screening bean germplasm for resistance to Meloidogyne incognita. Plant Dis. 72: 970-972.

Osusky, M., G. Q. Zhou, L. Osuska, R. E. Hancock, W. W. Kay, and S. Mirsa. 2000. Transgenic plants expressing cationic peptide chimeras exhibit broad-spectrum resistance to phytopathogens. Nature Biotechnology 18(11): 1162-1166.

Painter, R. H. 1951. Insect resistance in crop plants. Univ. Press of Kansas, Lawrence. 520 p.

Painter, R. H. 1958. Resistance of plants to insects. Ann Rev. Ent. 3: 267-290.

Panda, N. and G. S. Khush. 1995. Host plant resistance to insects. CAB International, Wallingford, UK. 431 p.

Parker, C. and A. K. Wilson. 1986. Parasitic weeds and their control in the Near East. FAO Plant Prot. Bul. 34(2): 83-98.

Parlevliet, J. E. 1981. Disease resistance in plants and its consequences for plant breeding, pp. 309-364. In: K. J. Frey (ed.). Plant Breeding II. The Iowa State Univ Pr., Ames.

Parlevliet, J. E. 1992. Selecting components of partial resistance, pp. 281-302. In: H. T. Stalker and J. P. Murphy (eds). Plant breeding in the 1990s. CAB International, Wallingford, UK.

Parlevliet, J. E. 2002. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation. Euphytica 124: 147-156.

Parry, D. W. 1990. Plant pathology in agriculture. Cambridge Univ. Pr., Cmbridge. 385 p.

Pedlay, K. F. and G. B. Martin. 2003. Molecular basis of Pto-mediated resistance to bacterial speck disease in tomato. Ann. Rev. Phytopathol. 41: 215-243.

Phillips, M. S. 1994. Inheritance of resistance to nematodes, pp. 319-337. In: J. E. Bradshaw and G. R. Mackay (eds.). Potato genetics. CAB International, Wallingford, UK.

Pierre, J. G. M. de Wit. 1992. Functional models to explain gene-for-gene relationships in plant-pathogen interactions, pp. 25-47. In: T. Boller and F. Meins (eds.). Genes involved in plant defense. Springer-Verlag / Wien, N. Y.

Pink, D. A. C. 2002. Strategies using genes for non-durable disease resistance. Euphytica 124: 227-236.

Plowright, R. A., G. Caubel, and K. A. Mizen. 2002. Ditylenchus species, pp. 107-139. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Prell, H. H. and P. R. Day. 2001. Plant-fungal pathogen interaction. Springer-Verlag, Berlin. 214 p.

Provvidenti, R. and R. O. Hampton. 1992. Sources of resistance to viruses in Potyviridae, pp. 189-211. In: Archives of Virology. Supplementum 5. Springer-Verlag, / Wien, Vienna, Austria.

Prusky, D. 2003. Mechanisms of resistance of fruits and vegetables to postharvest diseases, pp. 581-598. In: J. A. Bartz and J. K. Brecht (eds.). Postharvest physiology and pathology of vegetables. Mercel Dekker, Inc., N. Y. 733 p.

Punja, Z. K. (ed.). 2004a. Fungal disease resistance in plants. Food Products Press, NY. 266 p.

Punja, Z. K. 2004b. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens, pp. 207-258. In: Z. K. Punja (ed.). Fungal disease resistance in plants. Food Products Press, NY.

Punja, Z. K. and S. H. T. Raharjo. 1996. Response of transgenic cucumber and carrot plants expressing different chitinase enzymes to inoculation with fungal pathogens. Plant Disease 80(9): 999-1005.

Radcliffe, E. B. and F. I. Lauer. 1966. A survey of aphid resistance in the tuber-bearing Solanum (Tourn.) L. species. Univ. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bul. 253. 23 p.

Rahe, J. E. 1981. Lack of correlation between field and laboratory tests for resistance with special reference to white rot of onions, pp. 193-200. In: R. C. Staples and G. H. Toenniessen (eds). Plant disease control: resistance and susceptibility. Wiley, N. Y.

Raski, D. J. and W. B. Hewitt. 1967. Nematode transmission. Vol 1: 309-345. In K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virology. Academic Pr., N. Y.

Reifschneider, F. J., O. Furumoto and F. A. R. Filgueira. 1984. Illustrated key for the evaluation of early blight of potatoes. FAO Plant Prot. Bul. 32(3): 91-94.

Remotti, P. C. 1998. Somaclonal variation and in-vitro selection for crop improvement, pp. 169-201. In: S. M. Jain, D. S. Brar, and B. S. Ahloowalia (eds.). Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherands.

Rhode, R. A. 1960. Mechanisms of resistance to plant parasitic nematodes. In: J. N. Sasser and W. R. Jenkins (eds). Nematology: fundamentals and recent advances with emphasis on plant parasitic and soil forms. Univ. North Carolina Pr., Chapel Hill.

Rhode, R. A. 1972. Expression of resistance in plants to nematodes. Ann. Rev. Phytopathol. 10: 233-252.

Roane, C. W. 1973. Trends in breeding for disease resistance in crops. Ann. Rev. Phytopathol. 11: 463-486.

Robbins, M. L. and F. F. Angell. 1971. Tomato anthracnose: a hypodermic inoculation technque for determining genetic reaction. J. Amer. Soc. Hort. Sci: 95: 118-119.

Roberts, P. A. 1992. Current status of the availability, development and use of host plant resistance to nematodes. J. Nematol. 24(2): 213-227.

Roberts, P. A. 1995. Conceptual and practical aspects of variability in root-knot nematodes related to host plant resistance. Ann. Rev. Phytopathol. 33: 199-221.

Roberts, P. A. 2002. Concepts and consequences of resistance, pp. 23-41. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Robinson, R. A. 1969. Disease resistance terminology. Rev. Appl. Mycol. 48: 593-606.

Robinson, R. A. 1971. Vertical resistance. Rev. Plant Pathol. 50: 233-239.

Robinson, A. F. 2002. Reniform nematodes: Rotylenchulus species, pp. 153-174. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Rommens, C. M. T., J. M. Salmeron, G. E. D. Oldroyd, and B. J. Staskawicz, 1995. Intergeneric transfer and functional expression of the tomato disease resistance gene Pto. Plant Cell 7(10): 1537-1544.

Rost, T. L., M. G. Barbour, R. M. Thoronton, T. E. Weier, and C. R. Stocking. 1984. Botany. John Wiley & Sons, NY. 342 p.

Roush, R. T. 1994. Managing pests and their resistance to Bacillus thuringiensis: can transgenic crops be better than sprays?. Biocontrol Science and Technology 4(4): 501-516.

Roush, R. 1997. Managing resistance to transgenic crops, pp. 271-294. In: N. Carozzi and M. Koziel (eds.). Advances in insect control: the role of transgenic plants. Taylor & Francis Ltd., London.

Russell, G. E. 1972. Components of resistance to diseases in sugar beet, pp. 99-107. In: F. G. H. Lupton, G. Jenkins, and R. Johnson (eds). The way ahead in plant breeding. The Plant Breeding Institute, Morris Lane, Cambridge.

Russell, G. E. 1978. Plant breeding for pest and disease resistance. Butterworths, London. 485 p.

Ryder, E. J. 1986. Lettuce breeding, pp. 433-474. In: M. J. Bassett (ed.) Breeding vegetable crops. Avi Pub. Co., Inc., Westport, Connecticut.

Sadasivam, S. and B. Thayumanavan. 2003. Molecular host plant resistance to pests. Marcel Dekker, Inc., NY. 479 p.

Sasser, J. N. and M. F. Kirby. 1979. Crop cultivars resistant to root–knot nematodes, Meloidogyne species, with information on seed soures. Dept. Plant. Path., N. C. State Univ., Raleigh. 24 p.

Sato, N., K. Tomiyama, N. Katsui, and T. Masmune. 1968. Isolation of rishitin from tubers of interspecific potato varieties containing different late blight resistance genes. Ann. Phytopathol. Soc. Japan 34: 140-142.

Schaad, N. W. (ed.) 1980. Laboratory guide for identifcation of plant pathogenic bacteria. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, Minnesota. 68 p.

Schafer, J. F. 1971. Tolerance to plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 9: 235-252.

Scholthof, K. B. G., H. B. Scholthof, and A. O. Jackson. 1993. Control of plant virus disease by pathogen-derived resistance in transgenic plants. Plant Physiol. 102: 7-12.

Schroeder, W. T. and R. Provvidenti. 1970. Resistance to watermelon mosaic virus 2 in Pisum sativum conditioned by the gene for resistance to bean yellow mosaic virus (Abstr.). Phytopathology 60: 1312-1313.

Schwartz, P. H. and D. R. Hamel (ed.). 1980. Guidlines for control of insect and mite pests of foods, fibers, feeds, ornamentals, livestock, households, forests, and forest products. Agr. Handbook No. 571. U. S. Dept. Agr., Wash., D. C. 796 p.

Sequeira, L. 1963. Growth regulators in plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 1: 5-30.

Serrano, C., P. Arce-Johnson, H. Torres, M. Gebauer, M. Gutierrez, M. Moreno, X. Jordana, A. Venegas, J. Kalazich, and L. Holuigue. 2000. Expression of the chicken lysozyme gene in potato enhances resistance to infection by Erwinia carotovora subsp. atroseptica. American Journal of Potato Research 77(3): 191-199.

Shade, R. E., H. E. Schroeder, J. J. Pueyo, L. M. Tabe, L. L. Murdock, T. J. V. Higgins, and M. J. Chrispeels. 1994. Transgenic pea seeds expressing the α–amylase inhibitor of the common bean are resistant to bruchid beetles. Bio/Technology 12(8): 793-796.

Shaner, G., E. L. Stromberg, G. H. Lacy, K. R. Barker, and T. P. Pirone. 1992. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. Ann. Rev. Phytopathol. 30: 47-66.

Sharma, G. C. and C.V. Hall. 1971. Cucurbitacin B and total sugar inheritance in Cucurbita pepo L. related to spotted cucumber beetle feeding. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96: 750-754.

Shay, J. R., E. B. Williams, and J. Janick. 1962 Disease resistance in apple and pear. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci 80: 97-104.

Shepherd, R. J. 1972. Transmission of viruses through seed and pollen, pp. 267-292. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y.

Shewry, P. R. and J. A. Lucas. 1997. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. Adv. Bot. Res. 26: 135-192.

Singh, B. D. 1993. Plant breeding: principles and methods. Kaylani Publishers, Ludhiana, New Delhi. 896 p.
Slater, A., N. W. Scott, and M. R. Flower. 2003. Plant biotechnology: the genetic manipulation of plants. Oxford University Press, Oxford, UK. 346 p.
Slykhuis, J. T. 1967. Methods for experimenting with mite transmission of plant viruses, In: K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virology. Vol. 1: 347-391. Academic Pr., N. Y.
Slykhuis, J. T. 1972. Transmission of plant viruses by Eriophyid mites. pp. 204-225. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y.
Smith, K. M. 1977. Plant viruses (6th ed.). Chapman and Hall., London. 241 p.
Smith, C. M., Z. R. Khan, and M. D. Pathak. 1994. Techniques for evaluating insect resistance in crop plants. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 320 p.
Snyder, J. C., D. A. Johnson, D. E. Good, and P. A. Weston. 1987. Type VI trichome exudates from chemotypes of L. hirsutum and L. hirsutum f. glabratum. Tomato Genet. Coop. Rep. 37: 67-68.
Spence, N. J. 1997. The molecular genetics of plant-virus interactions, pp. 347-357. In: I. R. Crute, E. B. Holub, and J. J. Burdon (eds.). The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK.
Stanghellini, M. E., S. L. Rasmussen, and G. J. Vandermark. 1993. Relationship of callose deposition to resistance of lettuce to Plasmopara lactucae-radicis. Phytopathology 83: 1498-1501.
Staples, R. C. and G. H. Toenniessen (eds). 1981. Plant disease control: resistance and susceptibility. John Wiley & Sons, N. Y. 339 p.

Starr, J. L. and I. F. Bendezu. 2002. Endoparsitic nematodes, pp. 229-239. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Starr, J. L., R. Cook, and J. Bridge (eds.). 2002. Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Staskawicz, B. J., F. M. Ausubel, B. J. Baker, J. G. Ellis, and J. D. G. Jones. 1995. Molecular genetics of plant disease resistance. Science (Washington) 268(5211): 661-667.

Stevens, M. A. and C. M. Rick. 1986. Genetics and breeding, pp. 35-109. In: J. G. Atherton and J. Rudich (eds). The tomato crop. Chapman and Hall, London.

Stevenson, F. J. and H. A. Jones. 1953. Some sources of resistance in crop plants, pp. 192-216. Plant Diseases - Yearbook of Agriculture. U. S. Dept. Agr., Wash., D. C.

Stoner, A. K. 1970. Breeding for insect resistance in vegetables. HortScience 5: 76-79.

Stotz, H. U., J. J. A. Contos, A. L. T. Powell, A. B. Bennett, and J. M. Labavitch. 1994. Structure and expression of an inhibitor of fungal polygalacturonases from tomato. Plant Molecular Biology 25(4): 607-617.

Strange, R. N. 1993. Plant disease control: towards environmentally acceptable methods. Chapman & Hall, London. 354 p.

Stuthman, D. D. 2002. Contribution of durable disease resistance to sustainable agriculture. Euphytica 124: 253-258.

Swenson. K. G. 1967. Plant virus transmission by insects Vol 1: 267-307. In: K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virology. Academic Pr., N. Y.

Swiezynski, K. M. 1994. Inheritance of resistance to viruses, pp. 339-363.
Tabei, Y., S. Kitade, Y. Nishizawa, N. Kikuchi, T. Kayano, T. Hibi, and K. Akutsu. 1997. Transgenic cucumber plants harboring a rice chitinase gene exhibit enhanced resistance to gray mold (Botrytis cinerea). Plant Cell Reports 17(3): 159-164.
Tacke, E., F. Salamini, and W. Rohde. 1996. Genetic engineering of potato for broad-spectrum protection against virus infection. Nature Biotechnology 14(11): 1597-1601.
Taji, A., P. Kumar, and P. Lakshmanan. 2002. In vitro plant breeding. Food Products Press, N. Y. 167 p.
Takken, F. L. W. and M. H. A. J. Joosten. 2000. Plant resistance genes: their structure, function and evolution. European Journal of Plant Pathology 106: 699-713.
Taylor, C. E. 1972. Transmission of viruses by nematodes, pp. 226-247. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y.
Taylor, A. L. and J. N. Sasser. 1978. Biology, idenification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species). Department of Plant Pathology, N. C. State University, Raleigh. 111 p.
Taylor, A. L., J. N. Sasser, and L. A. Nelson. 1982. Relationship of climate and soil characteristics to geographical distribution of Meloidogyne speies in agricultural soils. Dept. of Plant Pathology, N. C. State University, Raleigh. 65 p.
Teakle, D. S. 1967. Fungus transmission of plant viruses, Vol 1: 369-391. In: K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virology. Academic Pr., N. Y.
Teakle, D. S. 1972. Transmission of plant viruses by fungi. pp. 248-266. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y.

Thilmony, R. L., Z. T. Chen, R. A. Bressan, and G. B. Martin. 1995. Expression of the tomato Pto gene in tobacco enhances resistance to

Thomas, C. E., T. Inaba, and Y. Cohen. 1987. Physiological specialization in Pseudoperonospora cubensis. Phytopathology 77: 1621-1624.

Thomas, C. E., Y. Cohen, E. L. Jourdain, and H. Eyal. 1987. Use of reaction types to identifying downy mildew resistance in muskmelons. HortScience 22: 638-640.

Thomzik, J. E., K. Stenzel, R. Stocker, P. H. Schreier, R. Hain, and D. J. Stahl. 1997. Synthesis of a grapevine phytoalexin in transgenic tomatoes (Lycopersicon esculentum Mill.) conditions resistance against Phytophthora infestans. Physiological and Molecular Plant Pathology 51(4): 265-278.

Thurston, H. D. 1971. Relationship of general resistance: late blight of potato. Phytopathology 61: 620-626.

Tigchelaar, E. C. and J. B. Dick. 1975. Induced resistance from simulataneous inoculation of tomato with Fusarium oxysporum Sacc. and Verticillium albo-atrum Reinke & Berth. HortScience 10: 623-624.

Tingey, W. M. 1980. Breeding for Arthopod resistance in vegetables, pp. 495-504. In: M. K. Harris (ed.). Biology and breeding for resistance to arthopods and pathogens in agricultural plants. Texas Agr. Exp. Sta., College Station.

Tingey, W. M. 1981. The environmental control of insects using plant resistance, Vol. I: 175-197. In: D. Pimentel (ed.). CRC handbook of pest management in agriculture. CRC Pr., Boca Raton, Florida.

Tingey, W. M. and S. R. Singh. 1980. Environmental factors influencing the magnitude and expression of resistance, pp. 82-113. In: F. G. Maxwell and P. R. Jennings (eds). Breding plants resistant to insects. Wiley, N. Y.

Tomiyama, K. 1963. Physiology and biochemistry of disease resistance of plants. Ann. Rev. Phytopathol. 1: 295-324.

Tomiyama, K., T. Sakuma, N. Ishizaka, N. Sato, N. Katsui, M. Takasugi, and T. Masmune. 1968. A new antifungal substance isolated from resistant potato tuber tissue infected by pathogens. Phytopathology 58: 115-116.

Trudgill, D. L. 1991. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. Ann. Rev. Phytopathol. 29: 167-192.

Truve, E., A. Aaspollu, J. Honkanen, R. Puska, M. Metho, A. Hassl, T. H. Terri, M. Kelve, P. Seppanen, and M. Saarma. 1993. Transgenic potato plants expressing mammalian 2'-5' oligoadenylate synthetase are protected from potato virus X infection under field conditions. Bio/Technology 11(9): 1048-1052.

Tu, J. C. and V. Poysa. 1990. A brushing method of inoculation for screening tomato seedlings for resistance to Septoria lycopersici. Plant Dis. 74: 294-297.

Tuzun, S. 2001. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horozontal) resistance in plants. Europ. J. Plant Pathol. 107: 85-93.

University of California. 1986. Integrated pest management for potatoes in western United States. Div. Agr. Nat. Resources. Pub. 3316. 146 p.

Updhyay, R. K. and K. G. Mukerji (eds.). Toxins in plant disease development and evolving biotechnology. Science Publishers, Inc., Enfield, NH, USA.

Van den Bosch, F. and C. A. Gilligan. 2003. Measures of durability of resistance. Phytopathology 93: 616-625.

Van der Plank, J. E. 1963. Plant diseases: epidemics and control. Academic Pr., N. Y. 349 p.

Van der Plank, J. E. 1968. Disease resistance in plants. Academic Pr., NY. 206 p.

Van der Plank, J. E. 1982. Host-pathogen interactions in plant disease. Academic Pr., NY. 207 p.

Van der Plank, J. E. 1984. Disease resistance in plants (2nd ed.). Academic press, NY. 194 p.

Van Emden, H. F. 1987. Cultural methods: the plant, pp. 27-68. In: A. J. Burn, T. H. Coaker, and P. C. Jepson (eds). Integrated pest management. Academic Pr., Lodon.

Vavilov, N. I. 1951. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. Translated by K. S. Chester. The Ronald Pr. Co. NY. 364 p.

Verdejo-Lucas, S. and D. T. Kaplan. 2002. The citrus nematodes: Tylenchulus semipenetrans, pp. 207-219. In: J. L. Starr, R. Cook, and J. Bridge (eds.). Plant resistance to parasitic nematodes. CABI Publishing, Wallingford, UK.

Vidhyasekaran, P. 1988. Physiology of disease resistance in plants. Vol. I. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. 149 p.

Vivian, A., M. J. Gibbon, and J. Murillo. 1997. The molecular genetics of specificity determinants in plant pathogenic bacteria, pp. 293-328. In: I. R. Crute, E. B. Holub, and J. J. Burdon (eds.). The gene-for-gene relationship in plant-parasitic interactions. CAB International, Wallingford, UK.

Wain, R. L. 1977. Chemical aspects of plant disease resistance. Pontificiae Academiae Scientiarvm Scripta Varia 41: 483-499.

Walker, J. C. 1941. Disease resistance in the vegetables. Bot. Rev. 7: 458-506.

Walker, J. C. 1953. Disease resistance in the vegetables II. Bot. Rev. 19: 606-644.

Walker, J. C. 1957. Plant pathology. McGraw, N. Y. 707 p.
Walker, J. C. 1959. Progress and problems in controlling plant disease by host resistance. In: C. S. Holton et al (eds). Plant pathology: problems and progress 1908-1958. University of Wisconsin Pr., Madison.
Walker, J. C. 1965. Disease resistance in the vegetable crops. III. Bot. Rev. 31: 331-380.
Walker, J. C. 1965. Use of environmental factors in screening for disease resistance. An. Rev. Phytopathol. 3: 197-208.
Walker, J. C. 1966. Host resistance as it relates to root pathogens and soil microorganisms. In: K. F. Baker, W. C. Snyder et al. (eds). Ecology of soil–borne plant pathogens: prelude to biological control. University of California Pr., Berkely.
Walker, J. C. 1966. The role of pest control in new varieties, pp. 219-242. In: K. J. Frey (ed.). Plant Breeding. Iowa State Univ. Pr., Ames.
Wallace, D. H. and R. E. Wikinson. 1965. Breeding for Fusarium root rot resistance in beans. Phytopatholgy 55: 1227-1231.
Wallace, J. W. and R. L. Mansell (eds). 1976. Biochemical interaction between plants and insects. Plenum Pr., N. Y. 425 p.
Waller, J. P., J. M. Lenné, and S. J. Waller (eds). 2002. Plant pathologist's pocketbook (3rd ed.). CAB International, Wallingford, UK. 516 p.
Walsh J. A. 2000. Transgenic approaches to resistant plants as exemplified by viruses, pp. 218-252. In: M. Dickinson and J. Beynon (eds.). Molecular plant pathology. CRC Press, Boca Raton, Florida.
Wang, C., C. K. Chin, and A. Chen. 1998. Expression of the yeast Δ-9 desaturase gene in tomato enhances its resistance to powdery mildew. Physiological and Molecular Plant Pathology 52(6): 371-383.
Watson, M. A. 1972. Transmission of plant viruses by aphids, pp. 131-167. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N.Y.

Watt, K., J. Graham, S. C. Gordon, M. Woodhead, and R. J. McNicol. 1999. Current and future transgenic control straregies to vine weevil and other insect resistance in strawberry. J. Hort. Sci. Biotech. 74(4): 409-421.

Webb, R. E. 1955. Cotyledonary inoculation, a method for screening spinach for blight resistance. Phytopathology 45: 635.

Wbster, J. M. 1985. Interaction of Meloidogyne with fungi on crop plants, pp. 183-192. In: J. N. Sasser and C. C. Carter (eds.). An advanced treatise on Meloidogyne. Vol. 1: Biology and control. Department of Plant Pathology, North Carolin State University, Raleigh, NC.

Wenzel, G. 1998. Function of genetic material responsible for disease resistance in plants. Prog. Bot. 59: 80-107.

Weston, P. A., D. A. Johnson, H. T. Burton, and J. C. Snyder. 1989. Trichome secretion composition, trichome densities, and spider mite resistance of ten accessions of Lycopersicon hirsutum. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114: 492-498.

Wheeler, H. E. and H. H. Luke. 1955. Mass screening for disease–resistant mutants in oats. Science 122: 1229.

Whitaker, T. W. 1979. The breeding of vegetable crops: highlights of the past seventy years. HortScience 14: 359-363.

Whitcomb, R. F. 1972. Transmission of viruses and mycoplasma by the Auchenorrhynchous Homoptera, pp. 168-203. In: C. I. Kadd and H. O. Agrawal (eds). Principles and techniques in plant virology. Van Nostrand Reinhold Co., N. Y.

Wiersema, H. T. 1972. Breeding for resistance, pp. 174-187. In: J. A. de Box (ed.) Viruses of potato and seed potato production. Centre for Agr. Pub. and Doc., Wageningen.

Williams, P. H., J. C. Walker, and G. S. Pound. 1968. Hybelle and Sanibel, multiple disease–resistant F1 hybrid cabbages. Phytopathology 58: 791-796.

Wood, R. K. S. 1967. Physiological palnt pathology. Blackwell Scientific Pub., Oxford. 570 p.

Williamson, V. M. 1998. Root-knot nematode resistance genes in tomato and their potential for future use. Ann. Rev. Phytopathol. 36: 277-293.

Williamson, J. D. 2002. Plant biotecnology: past, present, and future. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 127(4): 462-466.

Wise, R. P., C. R. Bronson, P. S. Schnable, and H. T. Horner. 1999. The genetics, pathology, and molecular biology of T-cytoplasm male sterility in maize. Adv. Agronom 65: 79-130.

Wolfe, M. S. and C. Gessler. 1992. The use of resistance genes in breeding: epidemiological considerations, pp. 3-23. In: T. Boller and F. Meins (eds). Genes involved in plant defense. Springer-Verlag / Wien, N. Y.

Wu, G. S., B. J. Shortt, E. B. Lawrence, E. B. Levine, K. C. Fitzsimmons, and D. M. Shah. 1995. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H2O2 generating glucose oxidase in transgenic potato plants. Plant Cell 7(9): 1357-1368.

Wyatt, J. E., G. Fassuliotis, and A. W. Johnson. 1980. Efficacy of resistance to root-knot nematode in snap beans. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 105: 923-926.

Yarwood, C. E. 1959. Predisposition, Vol. 1: 521-562. In: J. G. Horsfall and A. E. Diamond (eds). Plant pathology: an advanced treatise. Academic Pr., N. Y.

Yarwood, C. E. and R. W. Fulton. 1967. Mechanical transmission of plant viruses, Vol 1: 237-266. In: K. Maramorosch and H. Koprowski (eds). Methods in virolgy. Academic Pr., N. Y.

Yun, D. J., R. A. Bressan, and P. M. Hasegawa. 1997. Plant antifungal proteins. Plant Breed. Rev. 14: 39-88.

Zeck, W. M. 1971. A rating scheme for field evaluation of root-knot nematode infestations. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 24: 141-144.

Zhang, Z., D. P. Coyne, A. K. Vidaver, and A. Mitra. 1998. Expression of human lactoferrin cDNA confers resistance to Ralstonia solanacearum in transgenic tobacco plants. Phytopathology 88: 730-734.

Zink, F. W. 1973. Inheritance of resistance to downy mildew (Bremia lactucae Reg.) in lettuce. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 98: 293-296.

Zink, F. W. and J. E. Duffus. 1970. Linkage of turnip mosaic virus susseptibility and downy mildew, Bremia lactucae, resistance in lettuce. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 420-422.

المؤلف فى سطور

دكتور / أحمد عبدالمنعم حسن. أستاذ الخضر بكلية الزراعية - جامعة القاهرة. من مواليد محافظة البحيرة 1942. حصل على البكالوريوس من جامعة الإسكندرية بتقدير ممتاز مع مرتبة الشرف الأولى عام 1962، والماجستير من جامعة ولاية نورث كارولينا 1966، والدكتوراه من جامعة كورنلّ بالولايات المتحدة 1970، عمل بجامعات الإسكندرية، والقاهرة، وبغداد، والإمارات العربية المتحدة. أشرف على عديد من طلبة الدراسات العليا فى جامعات القاهرة، وعين شمس، وبغداد، عضو عديد من اللجان والجمعيات العلمية المحلية والعالمية. له 45 مؤلفًا علميًّا وأكثر من 80 بحثًا علميًّا منشورة فى الدوريات العلمية المحلية والعالمية. حصل على جائزة الدولة التشجيعية ووسام العلوم والفنون من الطبقة الأولى (أكاديمية البحث العلمى - مصر)، والجائزة الأولى لندوة الثقافة والعلوم (دبى)، وأربع جوائز عن التأليف العلمى الزراعى (وزارة الزراعة - مصر).

* صدرت له الكتب التالية:

● فى مجال إنتاج الخضر: أساسيات إنتاج الخضر وتكنولوجيا الزراعات المكشوفة والمحمية - إنتاج محاصيل الخضر – أساسيات وفسيولوجيا الخضر – تكنولوجيا إنتاج الخضر – الأساليب الزراعية المتكاملة لمكافحة أمراض وآفات وحشائش الخضر – تكنولوجيا الزراعات المحمية.

● فى مجال تربية النبات: أساسيات تربية النبات - تربية محاصيل الخضر - تربية النباتات لمقاومة الأمراض والآفات – طرق تربية النبات – الأسس العامة لتربية النبات – تحسين الصفات الكمية – التكنولوجيا الحيوية وتربية النبات.

● سلسلة العلم والممارسة فى العلوم الزراعية: تكنولوجيا الزراعات المحمية (طبعات 1988، و 1990) - الطماطم - البطاطس - البصل والثوم - القرعيات - الخضر الثمرية - الخضر الجذرية والورقية والزهرية - الخضر الثانوية.

● سلسلة "العلم والممارسة لإنتاج الخضر فى الأراضى الصحراوية": أساسيات إنتاج الخضر فى الأراضى الصحراوية - إنتاج خضر المواسم الدافئة والحارة فى الأراضى الصحراوية - إنتاج خضر المواسم المعتدلة والباردة فى الأراضى الصحراوية - إنتاج وفسيولوجيا واعتماد بذور الخضر.

- سلسلة "محاصيل الخضر: تكنولوجيا الإنتاج والممارسات الزراعية المتطورة": الطماطم: تكنولوجيا الإنتاج والفسيولوجى والممارسات الزراعية والحصاد والتخزين - الطماطم: الأمراض والآفات ومكافحتها - إنتاج البطاطس - إنتاج البصل والثوم - القرعيات: تكنولوجيا الإنتاج والفسيولوجى والممارسات الزراعية والحصاد والتخزين - القرعيات: الأمراض والآفات ومكافحتها - إنتاج الفلفل والباذنجان - إنتاج الخضر البقولية - إنتاج الفراولة – إنتاج الخضر المركبة والخبازية والقلقاسية – إنتاج الخضر الخيمية والعليقية – إنتاج الخضر الكرنبية والرمرامية – إنتاج الخضر الثانوية وغير التقليدية (3 أجزاء).
- فى مجال الكتابة العلمية: أصول البحث العلمى (جزآن) - أصول إعداد ونشر البحوث والرسائل العلمية.